

COLETANEA

Do

I.T.A.

VOL. 2, 1967-68















211

CFTRI

He.

# COLETÂNEA

DO

CFTRI LIBRARY  
MYSORE-2A  
23 DEC 1974

INSTITUTO DE  
TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

VOLUME II

1967/1968







**COLETÂNEA**  
**DO**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**VOLUME 2**  
**1967/1968**

**Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo**  
**Campinas - São Paulo - Brasil**







## CONTEÚDO

1.	Determinação da Vitamina C total em extrato de tomate	
	<i>Eidiomar Angelucci, H. J. Krieger</i> .....	1
2.	Estudo comparativo do palmito enlatado	
	<i>Tobias J. B. Menezes, Mauro F. Freitas Leitão</i> .....	11
3.	Vitamina C em variedades nacionais de batata ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	
	<i>José Pio Nery</i> .....	23
4.	Estudo comparativo da ervilha enlatada	
	<i>Tobias J. B. Menezes, Mauro F. Freitas Leitão</i> .....	33
5.	Produção de aflatoxina por espécies de <i>Aspergillus</i> do Brasil (Est. de São Paulo), dos Estados Unidos e da Inglaterra	
	<i>Hatue Nakamura, Fumio Yokoya</i> .....	47
6.	O efeito da matéria insaponificável no comportamento do óleo de café	
	<i>L. Hartman, Regina C.A. Lago, J.S. Tango, Cyro G. Teixeira</i> .....	61
7.	O emprêgo de culturas puras no processamento de pickles de pepino	
	<i>Mauro F. Freitas Leitão, Tobias J.B. Menezes, Fumio Yokoya</i> .....	73



8.	Estudo comparativo do extrado de tomate enlatado	
	<i>Mauro F. Freitas Leitão, Tobias J. B. Menezes</i> .....	87
9.	Determinação do fator antitripsina nos produtos derivados da soja	
	<i>Ruth Musche, Massami Shimokomaki, Mauro F. Freitas Leitão</i> .....	103
10.	Hidrogenação seletiva dos grupos do ácido ciclopropeno em óleo de algodão	
	<i>T.L. Ward, João Shojiro Tango, E.R. Cousins, R.O. Feuge</i> .....	111
11.	Amido de mandioca por via seca e úmida	
	<i>Policarpo Vitti</i> .....	123
12.	Estudo de álcool metílico em vinhos nacionais	
	<i>Takuo Hashizume, Roberto H. Moretti</i> .....	135
13.	Modificação do método Wesson para determinação da perda de refinação em óleos e gorduras	
	<i>L. Hartman, Regina C. A. Lago</i> .....	161
14.	Velocidade de liofilização em sistemas fluidos concentrados	
	<i>Dietrich G. Quast, Marcus Karel</i> .....	167
15.	A atividade proteolítica do gênero <i>Ficus</i>	
	<i>Donald C. Williams, Valdemiro C. Sgarbieri, John R. Whitaker</i> .....	189
16.	Características viscográficas de variedades de arroz em culturas de sequeiro e de várzea (irrigado)	
	<i>Policarpo Vitti</i> .....	209



17. Velocidade de esterificação de alguns ácidos graxos comuns com glicerol	
<i>Leopold Hartman</i> .....	227
18. Microbiologia do milho enlatado	
<i>Mauro F. Freitas Leitão, Fumio Yokoya, Tobias J. B. Menezes</i> .....	233
19. Determinação da bebida de café "riada"	
<i>Ruth S. Garruti, Leda M. Pupo, Aldir A. Teixeira, Luiz Sérgio P. Pereira</i> .....	243
20. Influência do grau de torração sobre a composição química do café	
<i>L. A. Fobé, J. P. Nery, J. S. Tango</i> .....	251
21. A possibilidade do crescimento de <i>Clostridium botulinum</i> no palmito enlatado	
<i>Fumio Yokoya, Mauro F. Freitas Leitão, Tobias J. B. Menezes</i> .....	269
22. Fatores influindo na atividade diastásica da farinha de trigo	
<i>Werner Horst Bär</i> .....	275
23. Produção de amilase fúngica e sua aplicação na panificação	
<i>Y. K. Park, R. S. Papini, W. H. Bär, Policarpo Vitti</i> .....	317
24. Produção de "tempeh", produto fermentado de soja	
<i>Mauro F. Freitas Leitão, Tobias J. B. Menezes, João S. Tango</i> .....	333
25. Produção de amiloglicosídase fúngica pela fermentação submersa	
<i>Yong K. Park, Renato S. Papini</i> .....	341



26. Os efeitos do armazenamento pré e pós-enlatamento e do processamento sôbre a textura e estabilidade de damascos  
*Flávio Verlêngia* ..... 349
27. Aplicação da equação de Henderson em estudos de umidade de equilíbrio em café em côco, despulpado e beneficiado  
*Décio Travaglini, Yara Tosello* ..... 403
28. Determinação da atividade enzimica da alfa e beta-amilase durante a maturação da banana  
*Maria Izabel Giazzi, Ruth Musche* ..... 415
29. Aminoácidos da polpa da banana-nanica (*Musa cavendishii*) e banana-maçã (*Musa sapientum*)  
*V. C. Sgarbieri* ..... 425



## DETERMINAÇÃO DA VITAMINA C TOTAL EM EXTRATO DE TOMATE

Eidiomar Angelucci  
H. J. Krieger

### RESUMO

Determinou-se o conteúdo de ácido ascórbico pelo método de óxido-redução com 2,6 -diclorofenolindofenol-sódio.

Determinaram-se, também, os ácidos ascórbico e desidroascórbico pela oxidação do ácido ascórbico e desidroascórbico com 2,6 -diclorofenolindofenol-sódio e precipitação do desidroascórbico com 2,4 -dinitrofenilidrazina. Filtrou-se, diluiu-se o precipitado com acetona, evaporou-se a acetona, secou-se e dissolveu-se em volume conhecido de acetona. Cromatografou-se em camada delgada, eluiu-se com  $H_2SO_4$  85% e fez-se a leitura no espectrofotômetro a 525 m $\mu$ .

No primeiro caso, os valores foram muito superiores aos do segundo.

### SUMMARY

DETERMINATION OF TOTAL VITAMIN C IN TOMATO PASTE. The content of ascorbic acid was determined by oxidation-reduction method with 2,6 -dichlorophenolindophenol-Na.

It was also determined ascorbic acid and dehydroascorbic acid by oxidation of ascorbic acid to dehydroascorbic acid with 2,6 -dichlorophenolindophenol - Na, precipitation of dehydroascorbic acid with 2,4 -dinitrophenylhydrazine. It was filtered, the precipitate diluted with acetone, the acetone evaporated,



dried and dissolved again in a known volume of acetone. Ran in a thin-layer, eluted with  $H_2SO_4$  85% and read in a spectrophotometer at 525 m $\mu$ .

In the first method the values were higher than the second one.

## INTRODUÇÃO

Há cinco séculos ou mais, o escorbuto foi uma das doenças de maior incidência na Europa. Nos anais da literatura médica, não se encontra qualquer referência sobre a época em que os europeus passaram a sofrer desse mal. Sabe-se, contudo, que milhares de soldados morreram nas cruzadas e que navegadores famosos perderam grande parte de suas tripulações vitimada pela doença.

Na época da colonização do Novo Mundo, os europeus aprenderam com os nativos que os ramos e folhas de determinados vegetais serviam para evitar a doença. Dois fatos importantes foram assimilados por eles nesse período, a saber:

a) o valor antiescorbútico de vegetais frescos e frutas cítricas, tanto que Kramer, em 1720, os classificou como preventivos eficazes;

b) a introdução da batata na Europa, com consequente expansão da sua cultura e consumo, associando-se, com isso, o quase desaparecimento da doença.

Contudo, o mal continuava a afligir os marinheiros nas longas viagens, o que poderia ser evitado mediante o suprimento de laranjas e limões às tripulações.



Lind publicou, em 1757, as conclusões de suas experiências com a tripulação de um navio.

Em 1841, Budd atribuiu propriedades antiescorbúticas a certos alimentos que possuíam, segundo êle, uma "substância definida, que seria descoberta pelos químicos orgânicos ou fisiologistas, num futuro próximo".

King, em 1860, empregando métodos de química orgânica e fisiologia experimental, determinou a identidade química da vitamina C, o que foi confirmado, em 1932, por Szent-Györgyi. Isto foi seguido da sua síntese, o que a tornou a primeira vitamina a ser considerada como entidade química definida.

Nesse ínterim, contudo, o conceito de vitamina havia evoluído, de modo que em 1920, quando Drummond a incorporou no seu esquema de vitaminas, deu-lhe o terceiro lugar - a letra C - no alfabeto vitamínico, pois McCallum havia então designado a vitamina A - lipossolúvel e a B - hidrossolúvel.

## MATERIAL E MÉTODOS

Êste trabalho teve por escopo determinar exatamente o conteúdo de vitamina C total (ácido ascórbico, ácido desidroascórbico e ácido dicetogulônico) nos extratos de tomate mais comuns no mercado nacional.

Com êsse objetivo, foram analisadas 14 amostras compreendendo 12 marcas industriais, acondicionadas em latas ou copos de vidro.

Para fins comparativos, as determinações foram feitas pelos dois métodos seguintes:

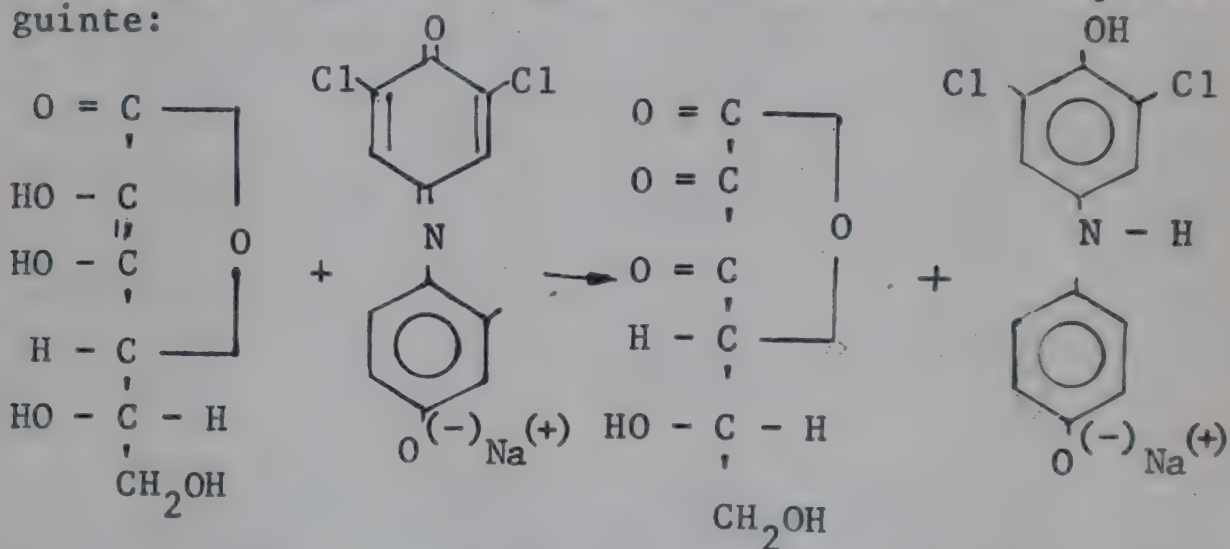
- a) titulação, direta e do filtrado;
- b) espectrofotométrico.



O método titulométrico é falho e pouco eficiente, em face de a cor do ponto de viragem (rosada), quase coincidir com aquela da solução (avermelhada). Por outro lado, o método espectrofotométrico, embora mais trabalhoso, é mais exato.

Os valores determinados por titulação são muito mais altos do que aqueles por espectrofotometria, de maneira que não representam o conteúdo real de vitamina C dos extratos de tomate analisados.

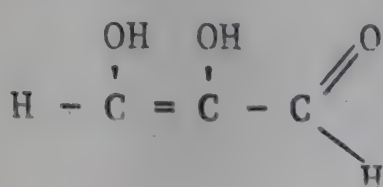
A determinação do ácido ascórbico pelo método de oxido-redução, baseia-se na redução do corante azul 2,6 -diclorofenolindofenol-sódio por aquele ácido. O ponto final de titulação é a coloração rosada, que aparece na solução, quando se adiciona uma gota a mais da solução do corante, conforme mostra a reação seguinte:



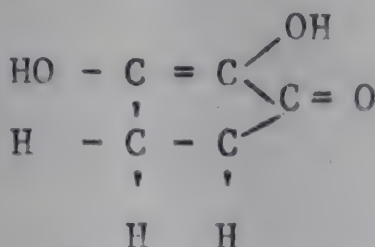
O uso do corante deve-se ao fato de que em pH menor do que 4, o ácido ascórbico é, talvez, o único composto que o reduz.

Os fenóis, os compostos sulfídricos, o tiosulfato e os íons ferroso, cuproso e estanhoso são os redutores que podem interferir na determinação. Outros compostos, que também interferem, são os chamados "reductones", que se formam por ocasião do processamento de alimentos aquecidos, principalmente quando contêm açúcares, como é o caso presente. Esses compostos, quer pelos grupos dienólicos, quer pelos gru-

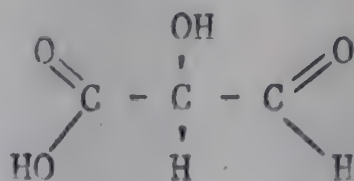
pos redutores, reduzem também o corante e, consequentemente, alteram o valor da titulação. Os referidos compostos são os seguintes:



"reductone"



"reductic acid"



"enol-tartron  
aldehyde"

Operando em pH menor do que 4 e utilizando uma boa solução extratora, como o ácido oxálico a 0,4% ou ácido metafosfórico a 1%, evitam-se muitos dos inconvenientes citados e obtêm-se melhores resultados.

No caso presente, empregou-se ácido oxálico a 0,7% (ácido oxálico diidratado a 1%).

A determinação direta de ácido ascórbico foi feita em amostra de 10 g de extrato de tomate colocada em Erlenmeyer de 250 ml, ao qual foram adicionados cerca de 80 ml de ácido oxálico. Após agitar suavemente para homogeneizar a amostra, gotejou-se, por uma bureta, a solução padrão de 2,6 -diclorofenolindoferol-sódio até que a sua coloração avermelhada passasse para a tonalidade rosada. O ponto final não é bem preciso e, por isso, devem ser feitas, antes, muitas provas em branco para se precisar melhor o ponto final da titulação. Geralmente, passa-se um pouco do ponto final, o que acarreta um aumento no conteúdo de ácido ascórbico.

Determinou-se, concomitantemente, o ácido ascórbico no filtrado. Para isso, 20 g de extrato de tomate foram colocados num balão de 100 ml, completando-se o volume com ácido oxálico. Após agitar suave-



mente, filtrou-se. Do filtrado, pipetaram-se 50 ml (equivalente a 10 g) e sobre estes fez-se a titulação com o corante.

Os valores são, neste caso, ligeiramente inferiores ao do método de determinação anterior, porém, o ponto final é um pouco mais fácil de ser notado.

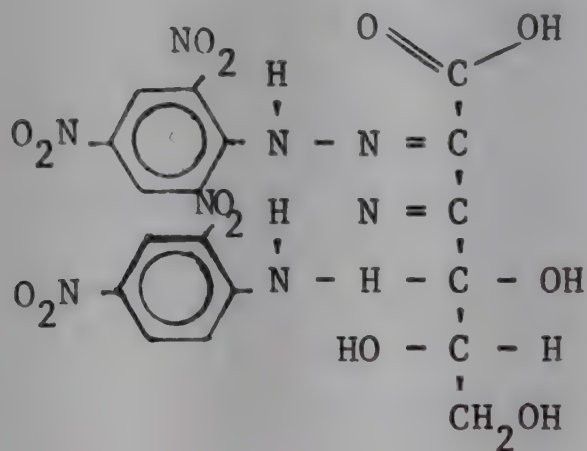
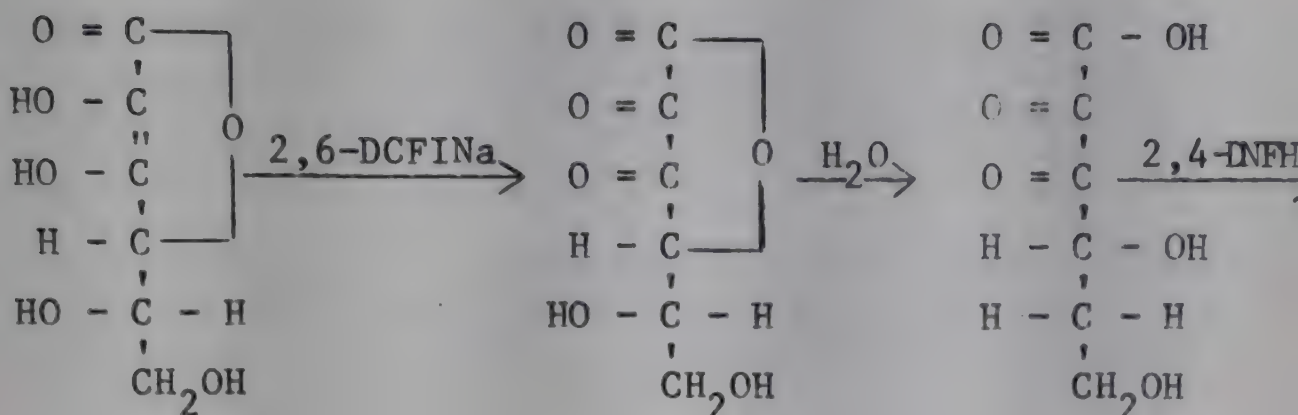
Para determinação da vitamina C total (ácidos ascórbico, desidroascórbico e dicetogulônico), em extrato de tomate pelo método espectrofotométrico, oxida-se, inicialmente, o ácido ascórbico a ácido desidroascórbico pelo 2,6 -diclorofenolindofenol-sódio. O ácido desidroascórbico, em meio aquoso, passa a ácido dicetogulônico, que vai reagir com a 2,4-dinitrofenilidrazina para formar a bis-2,4 -dinitrofenilidrazona, precipitado vermelho.

A passagem do ácido desidroascórbico para dicetogulônico não é instantânea, porém, à medida que o ácido dicetogulônico vai reagindo com a 2,4 -dinitrofenilidrazina, mais ácido desidroascórbico passa a dicetogulônico, de maneira que, no final da reação, só se tenha hidrazona deste último.

A copulação da hidrazina com ácido desidroascórbico também ocorre, mas é muito lenta, acreditando-se que se recombine à hidrazona do ácido dicetogulônico.

No caso presente, que também se tem bastante açúcar, é preciso separar as hidrazonas dos açúcares daquelas do ácido dicetogulônico, o que é viável pela cromatografia em camada delgada. A separação é perfeita. Pela eluição da faixa correspondente à bis-2,4 -dinitrofenilidrazona do ácido dicetogulônico com ácido sulfúrico 85%, filtração e posterior leitura em espectrofotômetro, pode-se avaliar a concentração de vitamina C total, desde que sejam usados, paralelamente, padrões de vitamina C correspondentes às concentrações no extrato de tomate.

As reações são as seguintes:



A leitura foi feita em espectrofotômetro a 525 mμ, usando-se água destilada para zerar o aparelho. Comparando-a com a do padrão de vitamina C correspondente às concentrações do extrato, obtêm-se, pela fórmula  $E_p/E_v \times V$ , em que  $E_p$  = absorção da amostra,  $E_v$  = absorção do padrão e  $V$  = concentração do padrão (mg/10 ml), o conteúdo de vitamina C total no extrato.

Os resultados são obtidos pelo cálculo ou também por meio do gráfico da curva padrão.



## RESULTADOS E CONCLUSÕES

No Quadro 1 estão indicados os resultados das determinações da vitamina C total nas doze marcas de extratos de tomate estudadas, em mg/100 g.

Quadro 1. Conteúdos de vitamina C total em 12 marcas de extrato de tomate do mercado nacional, determinados por três métodos.

Marcas de extrato de tomate	Conteúdos de vitamina C total determinados pelos:		
	Método de titulação		Espectrofotometria
	Direto	No filtrado	
1	34,4	27,3	5,4
2	53,3	41,3	10,4
3	52,2	40,6	43,7
4	30,2	21,6	9,3
5	30,5	26,3	23,2
6	22,0	20,5	1,4
7	91,4	75,7	78,4
8	26,5	21,4	14,6
9	57,0	46,4	38,3
10	24,5	18,4	14,6
11	21,8	17,2	1,0
12	49,0	39,7	36,2

Pelos resultados obtidos em ambos os métodos, verifica-se que muita vitamina C é perdida no processamento do extrato de tomate, quer pelo aquecimento, quer pelo manuseio da matéria-prima ou tomate bruto. Como este tem, em média, 20 mg/100 g de vitamina C, os extratos deveriam apresentar quantidades significativamente bem maiores do que as indicadas no quadro 1.

Os teores atribuíveis aos extratos são aqueles determinados pelo método espectrofotométrico, que é, indubitavelmente, o mais preciso, muito embora envolva uma série de etapas.

Observou-se, ainda, que os extratos de tomate de cor mais escura, foram os que apresentavam também menor teor de vitamina C.

As marcas dos produtos não são identificadas neste trabalho, a fim de não favorecer algumas em detrimento de outras.

## LITERATURA

1. CONN, E.E. & STUMPF, P.K. Ascorbic acid or vitamin C. In Outlines of Biochemistry. John Wiley & Sons, Inc., New York, 2nd ed., p.189-191, 1967.
2. COX, H.E. & PEARSON, D. Fruit and vegetable products. In The Chemical Analysis of Foods. Chemical Publishing Co., Inc., 1st ed., p. 201, 211-212, 1962.
3. FREED, M. L-Ascorbic acid (Vitamin C). In: Methods of Vitamin Assay. Interscience Publishers, 3rd ed., p. 287-344, 1966.
4. NUTRITION DATA. Comp. by Wooster Jr., H.A. and Blanck, F.C. Vitamin C. Ascorbic acid; anti-scorbutic factor; cevitamic acid (obs) 23-24, 1949.



5. PARMAN, G.K. & SALINARD, G.J. Las vitaminas como ingredientes en la elaboración de alimentos. Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos, S.A., Rio de Janeiro, 32 p., s.d.
6. ROCHE. La Vitamina C y su utilización en la industria de conservas vegetales. Asistencia Técnica en Alimentación, 5 p., 1965.
7. F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. Ltd., Basle/Switzerland. Information Service of the Vitamin Dept. Vitamin contents of modern dietaries losses due to various procedures. 27 p., s.d.
8. ROE, J.H. Chemical determination of ascorbic, dehydroascorbic, and diketogulonic acids. In Methods of Biochemical Analysis. Interscience Publishers, Inc., New York, vol. 1, p. 115-139, 1967.
9. ROSENBERG, H.R. Vitamin C-Ascorbic Acid. In Chemistry and Physiology of the Vitamins. Interscience Publishers, Inc., New York, p. 289-338, 1945.
10. SHERMAN, H.C. Ascorbic Acid (Vitamin C). Chemistry of Food and Nutrition. p. 334-367, 1963.
11. STROHECKER, R. & HENNING, H.M. Vitamina C (ácido L (+) ascórbico). In Analisis de Vitaminas. Métodos comprobados. Editorial Paz Montalvo, Madrid, p. 276-308, 1967.
12. UNIVERSIDAD DE CHILE. Editorial Universitária, S.A., Santiago. Metodos de Valoración química de vitaminas en alimentos, p. 49-56, 1958.

## ESTUDO COMPARATIVO DO PALMITO ENLATADO

Tobias J.B. de Menezes  
Mauro F. Freitas Leitão

## RESUMO

*Seis marcas comerciais de palmito enlatado foram submetidas a exames químico-microbiológicos com o objetivo de verificar as suas condições de processamento.*

*Os resultados revelam inúmeras falhas de processamento, particularmente em relação ao pH da salmoura, ausência de vácuo das latas e desuniformidade do produto.*

*Em amostras de cinco marcas examinadas, foram isoladas bactérias esporuladas e mesófilas, do gênero Bacillus (B. cereus, B. coagulans, B. subtilis), confirmando, assim, as más condições do processamento.*

## SUMMARY

COMPARATIVE MICROBIOLOGICAL STUDIES OF CANNED PALMITO (Heart of the Palm). *Six commercial brands of canned palm heart were examined with regard to microbiological and chemical conditions.*

*The results showed that inadequate processing conditions were prevailing. This was indicated by pH (higher than 4,5), low vacuum and lack of uniformity of palm hearts. In addition, spore forming (Bacillus subtilis, B. coagulans, B. cereus) were isolated from five of the six brands examined.*



## INTRODUÇÃO

Considerando que o palmito enlatado é um artigo bastante difundido em nosso meio e de ampla aceitação no mercado externo, é evidente que o julgamento das condições de seu processamento, através de exames físicos, químicos e microbiológicos, propiciará valiosos subsídios ao aprimoramento desse tipo de conserva.

O palmito é normalmente industrializado em fábricas instaladas nas imediações dos locais de exploração desse recurso natural. Como se trata de um produto bastante sensível ao calor, a esterilização é procedida pelo tratamento do material em banho-maria a 100°C e durante 45 minutos. Nestas condições, esporos de bactérias presentes no alimento não são totalmente destruídos, porém impedidos de se desenvolverem devido ao pH ácido da salmoura, que geralmente é em torno de 4,3, em consequência da adição de ácido cítrico.

O presente trabalho tem por objetivo verificar se, em relação ao produto em apreço, são alcançadas as condições necessárias à obtenção de uma conserva de boa qualidade e isenta de riscos de deterioração.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Em armazéns e supermercados da cidade de Campinas, foram coletadas 36 amostras de palmito enlatado representando seis marcas comerciais diferentes, com seis repetições cada uma.

Para efeito de apresentação dos resultados dos exames procedidos nessas amostras, as marcas são designadas pelas siglas PA, PB, PC, PD, PE e PF.

De cada marca de produto, três amostras foram utilizadas para os exames microbiológicos e as outras três para a determinação do vácuo das latas.

Tôdas as amostras foram submetidas às determinações de pH, concentração salina e relação sólido/líquido, bem como aos exames sobre o diâmetro, coloração e textura dos pedaços de palmito. As latas foram examinadas internamente com o objetivo de verificar seu estado de corrosão.

As determinações de pH foram feitas por potenciômetro e as de concentração salina por hidrômetro de sal.

Os exames microbiológicos foram procedidos segundo as normas recomendadas pelo "National Canners Association" (7) e pela "American Public Health Association" (5).

A contagem de microrganismos foi feita por diluição em série, empregando-se o meio de cultura de glicose-triptona-água.

Os microrganismos isolados foram classificados segundo o "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (2).

## RESULTADOS

Os resultados referentes aos exames procedidos nas seis amostras de cada marca comercial de palmito enlatado acham-se contidos nos quadros 1 a 6.

Examinando-se os dados dos quadros referidos, conclui-se que houve condições deficientes no processamento do palmito. Assim, em relação ao pH, apenas foram constatados valores abaixo de 4,5 para as amostras da marca PA; nas demais, os valores médios de pH variaram de 4,6 a 4,9. Quanto ao vácuo, os resultados mostram sua deficiência na maioria das marcas examinadas. Apenas as latas da marca PE apresentavam vácuo elevado.



Quadro 1. Exame do produto PA.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Conc. salina (%)	Diâ. dos pedaços (cm)	Relação sólido/líquido	Coloração e consistência	Estado interno das latas	Microorganismos viáveis
1	-	4,30	2,0	3,2-3,30-2,40	1:2	col.creme consistente boa	com evidência de cor rosão	Bact.esporuladas, mesófilas, aeróbias
2	-	4,30	2,0	3,20-2,00-3,30	1:2	color.creme, consistente.reg.	com evidência de cor rosão	Bact.esporuladas, mesófilas, aeróbias
3	-	4,20	2,0	3,00-2,20-3,60	1:1,5	col.creme cons. boa	Idem	Ausência
4	3,00	4,30	2,0	2,60-3,20-3,80	1:1,5	Idem	Idem	-
5	2,50	4,30	2,0	3,30-2,90-3,30	1:1,5	Idem	Idem	-
6	2,50	4,30	2,0	4,20-3,50-3,20	1:1	Idem	Idem	-
Valores médios	2,6	4,28	2,0					

Quadro 2. Exame do produto PB.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Conc. salina (%)	Diâm. dos pedaços (cm)	Relação sólido/líquido	Coloração e consistência	Estado interno das latas	Microorganismos viáveis
1	-	4,50	2,0	2,30-2,50-2,20 2,10-2,70	1,0:1,0	Color. creme, cons. boa	Com evidência de corrosão	Bac. esporuladas, mesófilas, aeróbias
2	-	4,70	2,0	3,70-2,40-2,50 2,80	1,5:1,0	Idem	Idem	Ausência
3	-	4,70	2,0	2,00-2,20-2,70 2,70-1,90	2,0:1,0	Color. de sunif. cons. sist. boa	Sem corrosão interna	Bact. esporuladas, mesófilas, aeróbias
4	0	4,70	2,0	3,10-2,70-2,90 2,50	1,5:1,0	Color. creme, cons. boa	Idem	-
5	0	4,70	2,0	3,20-1,80-2,10 2,90	1,0:1,0	Idem	Idem	-
6	0	4,60	2,0	2,40-2,20-1,70 2,00-2,30	1,5:1,0	Idem	Idem	-
Val. méd.	0	4,65	2,0					



Quadro 3. Exame do produto PC.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Conc. salina (%)	Diâm. dos pedaços (cm)	Relação sólido/líquido	Coloração e consistência	Estado interno das latas	Microorganismos viáveis
1	-	5,10	1,50	6,10-5,50-2,30	1:2	Color. de- sunif. con- sist. boa	Com evidên- cia de cor- rosão	Ausência
2	-	4,70	1,50	1,80-1,30-2,00 2,50-2,40-2,10	2:1	Color. cre- me, con- sist. boa	Com evidên- cia de cor- rosão	Ausência
3	-	4,80	1,50	2,10-1,20-3,10 1,70-3,00-1,70	2:1	Color. cre- me, con- sist. boa	Com evidên- cia de cor- rosão	Bact. esporula- das, mesófilas, aeróbias
4	1,0	4,90	1,50	2,40-1,50-1,20 2,10-2,40-2,90 1,90	2:1	Idem	Idem	-
5	0,0	5,00	1,50	2,20-1,90-2,50 1,00-3,50-3,00	2:1	Idem	Idem	-
6	0,0	5,00	1,50	1,70-2,00-2,10 2,20-2,80-1,70 2,60-1,00	2:1	Idem	Idem	-
Val. méd.	0,3	4,91	1,50					

Quadro 4. Exame do produto PD.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Conc. sa- lina (%)	Diâm. dos peda- ços (cm)	Relação sólido/ líquido	Coloração e consis- tência	Estado in- terno das latas	Microorganis- mos viáveis
1	-	4,30	2,50	4,00-2,50-2,10 2,40	1,0:1,0	Color. nor- mal (bran- co) cons. boa	Sem corro- são inter- na	Ausência
2	-	4,90	2,50	2,00-2,50-1,50 3,00-2,50	1,0:1,0	Color. nor- mal, con- sist. boa	Sem corro- são inter- na	Ausência
3	-	4,70	2,50	3,00-2,50-3,20 2,80	1,5:1,0	Idem	Idem	Ausência
4	4,0	4,60	2,50	2,20-2,50-2,20 1,80-2,80	1,5:1,0	Idem	Idem	
5	6,0	4,60	2,50	2,60-2,90-1,80 1,50-2,50	1,5:1,0	Idem	Idem	
6	4,0	4,60	2,50	3,00-2,50-2,80 3,10	2,0-1,0	Idem	Idem	
Val. med.	4,6	4,61	2,50					



Quadro 5. Exame do produto PE.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Conc. salina (%)	Diâm. dos pedaços (cm)	Relação sólido/líquido	Coloração e consistência	Estado interno das latas	Microorganismos viáveis
1	-	4,50	1,50	2,20-1,50-2,70 2,50-2,20	1,0:1,50	Coior.de-sunif.con-sist. má	Sem corro-são inter-na	Bact.esporula-das, mesófilas, aeróbias
2	-	4,70	1,50	3,50-2,80-2,30	1,0:1,50	Color.cre-me, cons.boa	Sem corro-são inter-na	Bact.esporula-das, mesófilas, aeróbias
3	-	4,60	1,50	1,50-1,50-1,50 1,50-2,70	1,0:2,0	Color.de-sunif.con-sist. má	Sem corro-são inter-na	Bact.esporula-das, mesófilas, aeróbias
4	7,0	4,70	1,50	2,40-2,30-3,50	1,0:1,50	Color.cre-me, cons.regular	Sem corro-são inter-na	-
5	12,0	4,60	1,50	2,0-2,0-2,0 1,80-1,50-1,50	1,0:1,50	Color.cre-me, cons.regular	Sem corro-são inter-na	-
6	9,0	4,70	1,50	1,80-2,20-2,30 1,50-1,50	1,0:1,50	Idem	Idem	-
Val. med.	9,3	4,63	1,50					

Quadro 6. Exame do produto PF.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Conc.sali- na (%)	Diâm. dos peda- ços (cm)	Relação sólido/ líquido	Coloração e consis- tência	Estado in- terno das latas	Microrganismos viáveis
1	-	4,70	2,50	2,20-2,10-2,50 1,50-1,20-1,10	1,0:1,0	Color.creme, cons. regular	Sem corrosão inter- na	Ausência
2	-	4,60	2,50	3,20-3,50-3,10	1,0:1,0	Col.desunif.cons. boa	Sem corrosão inter- na	Ausência
3	-	4,70	3,00	3,20-3,20-2,10 2,00	1,0:1,0	Color.desunif.cons. sist.reg.	Idem	Bac.esporuladas,mesófilas, aeróbias
4	4,0	4,40	3,00	1,00-2,40-1,80 2,40-2,20	1,0:1,5	Color.creme, cons. regular	Idem	-
5	3,5	4,70	3,00	3,50-3,80-3,40	1,5:1,0	Col.desunif.cons. boa	Idem	-
6	3,5	4,60	3,00	2,20-2,80-2,80 2,00-1,20	1,0:1,0	Color.creme, cons. reg.	Idem	-
Val. med.	3,6	4,61	2,8					



A relação sólido/líquido ideal de 2:1 também não foi constatada, com exceção apenas de algumas amostras da marca PC.

Em relação à coloração e consistência, os resultados foram satisfatórios, particularmente aqueles relacionados a esta última característica. A coloração ideal apenas foi verificada nas amostras correspondentes à marca PD.

Quadro 7. Ocorrência de amostras contaminadas nas diferentes marcas

Marca	Latas examinadas	Latas contaminadas	Microrganismos isolados
PA	3	2	2
PB	3	2	2
PC	3	1	2
PD	3	0	0
PE	3	3	10
PF	3	1	2

Quanto aos exames microbiológicos, o dados do quadro 7 mostram a ocorrência de amostras contaminadas correspondentes às diferentes marcas. Foram isoladas 18 culturas de microrganismos, identificados como bactérias esporuladas, mesófilas e aeróbias, pertencentes ao gênero *Bacillus*. As espécies identificadas, com as respectivas porcentagens de ocorrência, foram as seguintes:

<u>Microrganismo</u>	<u>%</u>
<i>B. subtilis</i> .....	22,3
<i>B. cereus</i> .....	55,4
<i>B. coagulans</i> .....	22,3

Na relação abaixo, está indicada a ocorrência das várias espécies de microrganismos, segundo as diferentes marcas comerciais de palmito em conserva estudadas.

<u>Marca</u>	<u>Microrganismos</u>
PA .....	<i>B. cereus</i>
PB .....	<i>B. subtilis</i>
PC .....	<i>B. cereus</i> e <i>B. subtilis</i>
PD .....	Ausente
PE .....	<i>B. coagulans</i> e <i>B. subtilis</i>
PF .....	<i>B. cereus</i> e <i>B. subtilis</i>

A contagem de microrganismos em placas, pelo método de diluição em série, foi positiva apenas com uma amostra da marca PE, que revelou uma população de  $2,1 \times 10^5$  bactérias por ml de salmoura.

### CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Os resultados dos exames procedidos demonstram claramente as condições deficientes de processamento do palmito enlatado, evidenciadas pelo vácuo reduzido das latas, desuniformidade no aspecto do produto, pH acima do mínimo exigido (que é de 4,5) contaminação por microrganismos viáveis, etc.

Se bem que as espécies de bactérias isoladas não sejam patogênicas, o seu eventual desenvolvimento no produto enlatado com pH acima de 4,5, poderá provocar sensíveis alterações, tornando-o impróprio ao consumo. Uma vez que a esterilização do palmito enlatado é procedida em banho-maria a 100°C e durante 45-60 minutos, tal tratamento não é suficiente para a destruição dos esporos de bactérias de maior resistência térmica, os quais permanecem viáveis e em condições de provocar a deterioração do produto. São, entretanto, inibidas de desenvolver pela acidificação do alimento, a valores de pH ao redor de 4,3, o qual assim permanecerá inalterado.



Os resultados obtidos evidenciam, contudo, que a adição de ácido não foi procedida corretamente, exceto no caso do palmito enlatado de marca PA. Há, assim, riscos de sérios problemas de deterioração, inclusive de desenvolvimento de esporulados patogênicos (*Cl. botulinum*), comprovando, dessa forma, a necessidade do emprêgo de técnica mais precisa para obtenção de um produto de qualidade superior.

#### LITERATURA

1. BAUMGARTNER, J.G. & HERSOM, A.C. Conservas Alimentícias. Fundamentos técnico-microbiológicos. Editorial Acribia, Zaragoza, 301 p., 1959.
2. BREED, R.S., MURRAY, E.C.D. & HITCHENS, A.P. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 6th. ed., 1529 p., 1948.
3. CRUESS, V.W. Commercial Fruit and Vegetable Products. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York, 4th ed., 1958.
4. Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria. Society of American Bacteriologists, Geneva, N.Y. 9 th. ed., 1946.
5. Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods. Publication Office, American Public Health Association, Inc., New York, N.Y., 207 p., 1958.
6. TANNER, W.F. The Microbiology of Foods, Garrard Press, Champaign, Illinois, 1946.
7. TOWNSEND, C., SOMERS, I. & outros. A Laboratory Manual for the Canning Industry. National Cannery Association, 2nd ed., 1956.
8. WEISER, H.H. Pratical Food Microbiology and Technology. The AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, 345 p., 1962.

## VITAMINA C EM VARIEDADES NACIONAIS DE BATATA (*Solanum tuberosum* L.)

J. P. Nery

### RESUMO

O presente trabalho, relacionado com o teor em vitamina C, uma das mais abundantes nessa importante solanácea, teve por finalidade fazer um estudo comparativo entre 10 variedades nacionais de batata e 2 variedades importadas, bastante cultivadas no Estado de São Paulo.

As variedades nacionais estudadas foram: Aracy (IAC 2), Araruama (IAC 307), Cecy (IAC 2562), IAC 2598, IAC 2924, IAC 3195, Iraí (IAC 567), Jacy (IAC 474), Piraquara (IAC 391) e Yara (IAC 2968).

As variedades importadas, procedentes da Alemanha, foram: Aquilla e Delta "A".

Os teores de vitamina C encontrados variaram, em média, de 15,39 mg/100 g na Jacy a 30,31 mg/100 g na Yara, no grupo das nacionais, enquanto que nas variedades importadas, os teores foram de 18,48 mg/100 g na Aquilla e 24,40 mg/100 g na Delta "A". Observou-se que a Yara é uma variedade bastante promissora quando comparada com o teor máximo de 33 mg/100 g encontrado para batata, citado em literatura especializada.

A análise estatística dos resultados revelou que há diferença altamente significativa ( $F=9,31^{**}$  entre as variedades quanto ao teor de vitamina C. Observou-se, também, uma correlação apenas significativa ( $r=0,62^{*}$ ) entre teor de vitamina C (na base seca) e o teor de umidade do produto natural.



## SUMMARY

VITAMIN C CONTENT IN SOME BRAZILIAN VARIETIES OF POTATOES. (*Solanum tuberosum* L.). The purpose of the present study was to compare the vitamin C content in 10 Brazilian varieties of potatoes, and 2 imported ones which are extensively cultivated at São Paulo State.

The Brazilian varieties were: Aracy (IAC 2), Araruama (IAC 307), Cecy (IAC 2562), IAC 2598, IAC 2924, IAC 3295, Iraí (IAC 567), Jacy (IAC 474), Piracura (IAC 391) and Yara (IAC 2968).

The imported varieties from Germany were: Aquilla and Delta "A".

The vitamin C content varied, in average, from 15,39 mg/100 g in the variety Jacy up to 30,31 mg/100 g in the variety Yara, in the Brazilian group, while in the imported ones the author found 18,48 mg/100 g in the variety Aquilla and 24,40 mg/100 g in the variety Delta "A". In this respect one can see that Yara is a very promising variety when compared to the maximum content of 33 mg/100 g found in specialized literature.

The statistical analysis of the results showed highly significant difference ( $F=3,31^{**}$ ) for vitamin C in the varieties studied. Significant correlation ( $r=0,62^{*}$ ) was found between vitamin C content (dry basis) and the moisture content for the raw product.

## INTRODUÇÃO

A batatinha é mundialmente considerada como importante fonte de alimento, colocando-se, sob este aspecto, depois do arroz, do trigo e do milho. Até há poucos anos, sua cultura não era considerada de expressão econômica no Brasil. Aos poucos, porém, conquistando a preferência entre os brasileiros, de

maneira a se constituir, presentemente, num dos principais produtos agrícolas do País.

Não obstante a expansão da área cultivada no Brasil, havia necessidade de se efetuar, eventualmente, a importação dessa solanácea para cobrir a quebra da produção nacional em certos anos. Com o passar do tempo e, sobretudo em decorrência do aprimoramento técnico da cultura resultante dos trabalhos de pesquisas conduzidos no Instituto Agrônômico e no Instituto Biológico, conseguiu-se obter aumento substancial da produção por área, a ponto de o País não ter mais necessidade de importá-la para consumo. Contudo, em consequência de dificuldades locais para produção de batatas-semente destinadas ao plantio, motivadas por condições climáticas e doenças de vírus e, principalmente, por não se dispor de variedades nacionais adaptadas às condições ali prevalecentes, a importação desse material da Holanda, da Alemanha, da Suécia, etc., ainda é feita anualmente, em escala apreciável.

Com a finalidade de solucionar esse problema, isto é, variedades adaptadas às diferentes condições de clima e solo de São Paulo e dos demais Estados produtores, bem como resistentes às moléstias ali prevalecentes, foi iniciado, em 1947, um plano científico do qual resultou a criação de variedades nacionais. Algumas delas, já em multiplicação em escala comercial, serão relacionadas mais adiante.

Acontece, porém, que o estudo de uma nova variedade não deve ficar restrito apenas ao seu comportamento quanto à produtividade, à resistência e ao valor comercial, mas, também, abranger o seu valor nutritivo. Por esse motivo, vários estudos relacionados com esse aspecto, vêm sendo executados pelos técnicos paulistas responsáveis por essa cultura e pelo Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, como é o caso do presente trabalho, relacionado ao teor de vitamina C (ácido ascórbico), que é uma das mais encontradas nessa solanácea.



Apesar de o valor nutritivo da batata estar mais ligado ao seu valor energético, os pesquisadores estão encarando esse tubérculo como boa fonte de algumas vitaminas, entre as quais, em quantidades nutricionalmente significativas, podem ser citadas as seguintes: vitamina C (ácido ascórbico), tiamina, niacina, vitamina K, riboflavina, vitamina A (como caroteno), piridoxina, biotina, inositol e ácido pantotênico.

Dessas vitaminas, a literatura especializada (8) apresenta os seguintes teores, em 100 g de material em estado fresco:

<u>Vitaminas</u>	<u>Teores</u>	<u>%</u>
Vitamina C .....	10 a 30 mg	95,0
Niacina .....	0,4 a 1,2 mg	3,8
Vitamina K .....	0,1 mg	0,5
Tiamina .....	0,05 a 0,12	0,4
Riboflavina .....	0,01 a 0,06	0,2
Vitamina A (caroteno).	0,01 a 0,06	0,2

Atualmente, grande atenção tem sido devotada ao ácido ascórbico, do qual a batata é uma fonte dietética importante, principalmente entre as famílias remediadas dos países europeus, onde o consumo, "per capita", é elevado.

A vitamina C encontra-se concentrada na região vascular e na extremidade de brotação do tubérculo (6). Concentrações relativamente altas de ácido ascórbico têm sido relatadas estar correlacionadas com a maturação avançada, tubérculos graúdos, altitude do local de plantação, início de brotação (particularmente próximo dos "olhos"), etc. Não foi estabelecida, entretanto, nenhuma relação entre teor de vitamina C e as seguintes variáveis: variedades, locais de plantio, adubação, pH do solo, presença de elementos menores, tipos de solo, etc. (4). Verificou-se haver alguma relação entre variedades, mas esse assunto é objeto de controvérsias.

Em relação ao armazenamento, Karikka e outros (4) observaram um decréscimo de 26 para 8 mg/100 g, em um espaço de 6 meses após a colheita. Allison e Driver (1), trabalhando com 20 variedades de batata, observaram um decréscimo de 16 para 10 mg/100g no decurso de 8 meses de armazenamento. Barker e Manson (2), observaram que, após a colheita, a batata armazenada sofre uma diminuição rápida de ácido ascórbico, seguindo-se de uma diminuição lenta, sendo que no decurso de alguns meses, mais da metade do ácido ascórbico existente no tubérculo pode desaparecer. Essa perda é tanto mais rápida e mais severa, quanto mais baixa for a temperatura de armazenamento.

No trabalho de Karikka, observa-se que a diminuição foi bem maior para o material armazenado a 40°F (4,4°C) do que para o armazenamento a 50°F (10°C).

O congelamento dos tubérculos conserva o ácido ascórbico, mas, logo após o degelo, a perda é extremamente rápida. O armazenamento em atmosfera de CO<sub>2</sub>, também conduz à perda crescente de ácido ascórbico (5).

As perdas de ácido ascórbico devidas ao descascamento são muito pequenas, mas elas aumentam se o tubérculo for muito subdividido.

Em relação às batatas cozidas, Heller e outros (3) verificaram que batatas que continham em média 12 mg/100 g de ácido ascórbico na substância fresca, perderam cerca de 70% desse ácido, pelo tratamento com vapor e cozimento.

Um estudo extenso de cozimento de batata foi feito por Streightoff e outros (7). A matéria-prima desse estudo continha de 16 a 27 mg/100 g de ácido ascórbico e as perdas verificadas foram de 5%, devidas ao tratamento com vapor e de 24 a 68% na confecção de purê, perdas essas que dependeram do tempo de permanência após o amassamento. As batatas cozidas em água perderam 13% e, em forno, 28% do seu conteúdo em ácido ascórbico.



Quanto às batatas fritas, as perdas de ácido ascórbico citados em literatura, variam de 16 a 35%.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material empregado no presente trabalho provinha da Seção de Raízes e Tubérculos do Instituto Agrônômico e constava de 10 variedades nacionais de batata e 2 variedades importadas bastante cultivadas no Brasil.

As variedades nacionais estudadas eram: Aracy (IAC 2), Araruama (IAC 307), Cecy (IAC 2598), IAC 2924, IAC 3195, Iraí (IAC 567), Jacy (IAC 474), Piraquara (IAC 391) e Yara (IAC 2968).

As variedades importadas, procedentes da Alemanha, eram: Aquila e Delta "A".

No material acima procederam-se às determinações de ácido ascórbico e umidade, com quatro repetições.

O ácido ascórbico total foi determinado pelo método de Tillmans (9) modificado, sendo os resultados expressos em miligramas de ácido por 100 g de tubérculos.

A umidade foi determinada em estufa a 105°C, durante 16 horas.

## RESULTADOS OBTIDOS E CONCLUSÕES

Os resultados obtidos estão registrados no Quadro 1. Com base na análise estatística desses resultados, indicada no Quadro 2, podem-se tirar as seguintes conclusões:

a) No tocante à riqueza em vitamina C, houve diferença altamente significativa ( $F=9,31$ ) entre variedades.

b) Apesar da variação constatada entre repetições ( $F=1,97$ ) em relação aos teores de vitamina C, essa variação não era, entretanto, significativa.

c) Houve correlação apenas significativa, positiva ( $R=0,62$ ), entre porcentagem de umidade e teor de ácido ascórbico na matéria seca.

d) A variedade nacional Yara, com média de 30,31 mg/100 g de ácido ascórbico, fica entre as variedades citadas em literatura, que apresentam os teores mais elevados dessa vitamina. A importância disso reside no fato de que, essa variedade, mesmo levando em conta as perdas de vitamina C, devidas ao armazenamento, descascamento, cozimento ou fritura, etc., ainda apresenta um saldo bem superior ao de outras variedades mais pobres em ácido ascórbico.

Quadro 1. Teores de ácido ascórbico (mg/100g) e umidade (%) em tubérculos de 12 variedades de batata.

Variedades	Teores de ácido ascórbico nas repetições					Umidade %
	I	II	III	IV	Médias	
Aracy	17,81	16,19	12,55	15,68	15,68	74,44
Araruama	21,69	22,11	19,14	19,14	20,52	83,31
Cecy	25,07	20,47	25,07	21,73	23,08	80,11
IAC 2598	22,33	24,44	22,33	14,32	20,85	81,60
IAC 2924	24,59	27,99	21,63	25,44	24,91	82,77
IAC 3195	21,14	23,18	15,04	16,69	19,01	75,25
Iraí	20,93	20,09	19,25	16,74	19,25	80,24
Jacy	16,34	15,08	15,50	14,66	15,39	80,54
Piraguara	21,23	18,78	11,84	25,72	19,39	75,96
Yara	28,07	31,32	30,92	30,92	30,31	75,34
Aquila	17,03	18,69	17,44	20,77	18,48	79,03
Delta "A"	23,58	26,06	24,40	23,58	24,40	78,28



Quadro 2. Análise estatística.

Variação	S.Q.	G.L.	Variância	F
Variedades	774,80	11	70,44	9,31 <sup>++</sup>
Repetições	44,63	3	14,88	1,97
Erro	249,74	33	7,57	-
Total	1.069,17	47	22,75	-

---

Correlação umidade x ácido ascórbico (B.sêca)  $R=0,62^*$

---

#### LITERATURA

1. ALLISON, R.M. & DRIVER, C.M. The effect of variety, storage and locality on the ascorbic acid content of the potato tuber. J. Sci. Food Agric. 4: 386-396. 1953.
2. BARKER, J. & MAPSON, L.W. Ascorbic acid content of potatoes. III, Influence of storage in nitrogen, air and pure oxygen. New Phytologist 51: 90-115. 1952.
3. HELLER, C.A. e outros. Losses in vitamin in large scale cookery. J. Nutrition 26: 377-383. 1943.
4. KARIKKA, K. J. e outros. Influence of variety, location, fertilizer and storage on the ascorbic acid content of potatoes grown in New York State. J. Agr. Res. 68: 49-63, 1944.

5. FRONEP, W. & VOLKSEN, W., Die Kartoffel. Johann Ambrosius Barth, Leipzig. 1950.
6. PAECH, K. Distribution of ascorbic acid in the potato. Biochem. Z. 298: 307-311, 1938.
7. STREIGHTOFF, F. e outros. Effects of large scale methods of preparation on vitamin content of food. I. Potatoes J. Am. Dietetic Assoc. 22:117-127. 1946.
8. TALBURT, W.F. & SMITH, O. Potato processing. The AVI Publishing Company, Inc., 1959.
9. UNIVERSIDAD DE CHILE, Facultad de Química y Farmacia. Métodos de Valoración de vitaminas en alimentos. 1958.





## ESTUDO COMPARATIVO DA ERVILHA ENLATADA

Tobias J. B. de Menezes

Mauro Faber de Freitas Leitão

## RESUMO

*Seis marcas comerciais de ervilha enlatada foram examinadas quanto às suas condições microbiológicas. Os resultados dessas análises mostraram que algumas continham Bacillus sp., indicando, assim, inadequado tratamento térmico das latas. Em outras, a presença de Micrococcus sp. indicava ter ocorrido contaminação pela água de resfriamento.*

*Tais resultados permitem concluir que, em algumas marcas de ervilha enlatada, são observadas falhas de processamento, o que as tornam impróprias para consumo.*

## SUMMARY

COMPARATIVE MICROBIOLOGICAL STUDIES OF CANNED PEAS. Six commercially processed canned peas were examined regarding their microbiological conditions.

*The results showed the presence of mesophilic bacilli in some samples which indicates an inadequate heat treatment of the cans, the presence of micrococci in some other samples indicated possible contamination from cooling water during the processing. These facts lead to the conclusion that some of the examined products are not safe for consumption.*



## INTRODUÇÃO

Poucos são os estudos sobre as condições de processamento e as características microbiológicas das diversas conservas comerciais normalmente consumidas em nosso meio.

Sobre as conservas de palmito, ervilha e extrato de tomate, produtos amplamente consumidos no Brasil, pouco ou quase nada se sabe sobre as suas condições de processamento. Consistem, na sua grande maioria, de produtos industrializados sem o necessário rigor técnico.

Tanto é assim, que os exames procedidos em diversas marcas de palmito enlatado revelaram condições de processamento pouco favoráveis, com presença de *Bacillus* sp., além da constatação de desuniformidade no vácuo, pH e concentração salina, na maioria das amostras examinadas (5).

Os exames da ervilha enlatada, seguindo as mesmas normas empregadas no estudo realizado com o palmito, visam indicar as principais falhas ocorridas no seu processamento, além de contribuir para o aprimoramento da técnica utilizada nas indústrias nacionais.

## MATERIAL E MÉTODO

Seis marcas comerciais de ervilha em conserva, acondicionadas em latas de 200 a 400 gramas de peso líquido, com seis repetições para cada marca, foram coletadas ao acaso em diversos armazéns e supermercados da cidade de Campinas.

De cada marca, três amostras foram utilizadas para os exames microbiológicos e as outras três para a medição do vácuo das latas. O conteúdo das seis latas representativas de cada marca foi submetido às deter-

minações de pH, acidez total expressa em ácido cítrico, concentração salina pelo hidrômetro de cloreto de sódio e relação em peso da ervilha e salmoura. Foram feitas observações quanto à consistência e cor do produto, assim como do estado interno das latas.

Os exames microbiológicos foram efetuados segundo as normas preconizadas para produtos não ácidos, descritas no "Recommended methods for the microbiological examination of foods" (1) e aquelas indicadas pela "National Canners Association (7)".

As bactérias isoladas foram identificadas de acordo com o "Bergey's manual of determinative bacteriology" (4).

Para efeito da apresentação e discussão dos resultados, as seis marcas comerciais de ervilha enlatada aqui estudadas foram designadas pelos grupos de letras PA, PB, PC, PD, PE e PF, respectivamente.

## RESULTADOS

Os resultados dos exames procedidos nas seis amostras correspondentes a cada marca estudada, acham-se inseridos nos quadros 1 a 6, com as respectivas médias.

Os dados relativos ao vácuo mostram que, de uma maneira geral, as latas apresentavam um vácuo normal, exceto para as marcas PF, com vácuo nulo, e PA com vácuo baixo.

Visto que normalmente não é feita a adição de ácidos à ervilha que vai ser processada, não foram observadas variações acentuadas no pH, que apresentou um valor médio em torno de 5,60 e na acidez, com valores variando entre 0,10 e 0,20 gramas de ácido cítrico por 100 cc nas diferentes marcas.



A concentração salina manteve-se uniforme dentro de uma mesma marca, variando entre 3,2 a 7,0% nas diferentes marcas.

A relação correta de sólido-líquido de 2:1 apenas foi constatada na marca PE, sendo que nas demais girou em torno de 1,5:1.

Em relação à uniformidade e textura do conteúdo das latas, observou-se em algumas marcas, grande desuniformidade no material, tanto na cor como na textura, além da presença, numa mesma lata, de grãos macerados ao lado de grãos rijos. Contudo, as marcas PB e PF apresentavam melhores condições, com salmoura límpida e grãos bastante uniformes na textura.

Nos Quadros 7 e 8 estão indicados os resultados dos exames microbiológicos procedidos nas três amostras de cada marca comercial de ervilha enlatada.

Os microrganismos isolados foram identificados como bactérias do gênero *Bacillus*, na forma de bastonetes móveis, esporulados, mesófilos e aeróbios facultativos, ao lado de bactérias na forma de cocos, aeróbios e mesófilas, pertencentes ao gênero *Micrococos*.

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através das diversas análises e exames efetuados, demonstram as condições inferiores de processamento a que foi submetida a ervilha das marcas aqui estudadas.

Entre as características sujeitas à crítica, destaca-se a grande desuniformidade do material processado, seja no concernente à cor, como à textura. Com exceção das marcas PB e PF, onde se observou boa uniformidade do material, nas demais isto não ocorreu,

notando-se a presença de grãos macerados ao lado de grãos rijos, a formação de uma pasta provocada por ervilhas excessivamente maduras, salmoura turva, etc.

A importância dessas características no processamento pode ser melhor evidenciada pelas normas estabelecidas pelo "United States standards for grades of canned peas", nas quais para um total de 100 pontos na classificação de tipos, 50 pontos são atribuídos à textura e ao grau de maturação, 10 à cor e 10 ao aspecto da salmoura (8)\*. Segundo este critério, a maioria das amostras examinadas seria classificada como "sub-standard", representando, portanto, um produto de qualidade inferior. Provavelmente, uma das causas da maceração dos grãos seja o emprêgo de matéria-prima com elevado grau de maturação, ou, talvez, excesso de cozimento (2 e 8). O principal problema parece resultar, entretanto, do fato de a maioria das ervilhas enlatadas ser processada pela reidratação de ervilhas importadas.

Em relação aos microrganismos isolados e identificados, pode-se concluir que a presença de bactérias esporuladas do gênero *Bacillus*, indica que o tratamento térmico empregado na esterilização foi insuficiente para sua eliminação.

Como a ervilha enlatada é um produto pouco ácido, possibilitando, assim, o desenvolvimento de esporulados de grande resistência ao calor, maior atenção deverá ser dada ao tratamento térmico em autoclaves, de maneira a conseguir a destruição dessas bactérias, particularmente daquelas espécies patogênicas.

O isolamento de *Micrococcus* sp., em algumas amostras, indica a ocorrência de vazamento das latas por ocasião do resfriamento em tanques, uma vez que tais bactérias não conseguem sobreviver ao tratamento térmico normalmente empregado.

(\*) Os restantes 30 pontos são atribuídos a outras características



Quadro 1. Resultados das análises preliminares efetuadas com a amostra P<sub>1</sub>.

Lata n.º	Vácuo (pol)	pH	Acidez (g ác. cí- trico/ 100 cc)	Conc. salina (%)	Relação sólido/ líquido	Uniformidade, coloração, textura
1	4,0	5,70	0,14	5,5	2:1	Boa uniformidade, grãos de colo- ração esverdeada uniforme; textu- ra má com grãos excessivamente moles e macerados.
2	4,0	5,70	0,08	6,3	1,5:1	Idem
3	3,0	5,70	0,14	5,5	2:1	Idem
4	-	5,50	0,17	5,5	1,5:1	Idem
5	-	4,80	0,27	5,5	2:1	Idem
6	-	5,60	0,13	5,5	1,5:1	Idem
Valo- res mé- dios	3,6	5,50	0,15	5,6	-	

Quadro 2. Resultados das análises preliminares efetuadas com a amostra PB.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Acidez (g ác. cí- trico/ 100 cc)	Conc. salina (%)	Relação sólido/ líquido	Uniformidade, coloração, textura
1	7,5	5,70	0,12	3,7	1:1	Boa uniformidade; grãos de colo- ração verde-pardacenta; textura macia, sem presença de grãos mace- rados; salmoura limpa.
2	7,5	5,70	0,11	3,7	1,5:1	Idem
3	7,0	5,70	0,11	3,7	1,5:1	Idem
4	-	5,70	0,11	3,7	1:1	Idem
5	-	5,70	0,12	3,2	1,5:1	Idem
6	-	5,70	0,11	3,2	1:1	Idem
Valo- res mé- dios	7,3	5,70	0,113	3,53	-	



Quadro 3. Resultados das análises preliminares efetuadas com a amostra PC.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Acidez (g ác. cítrico/ 100 cc)	Conc. salina (%)	Relação sólido/ líquido	Uniformidade, coloração, textura
1	8,5	5,70	0,15	5,4	1,5:1	Uniformidade má, tanto no que se refere à coloração, como à textura; grãos verdes ao lado de amarelos; textura variando de mole a dura; salmoura turva.
2	5,5	5,70	0,15	5,4	2:1	Idem
3	8,5	5,70	0,15	5,4	1,5:1	Idem
4	-	5,70	0,15	5,4	1,5:1	Idem
5	-	5,70	0,15	5,4	1,5:1	Idem
6	-	5,70	0,15	5,4	1,5:1	Idem
Valores médios	7,5	5,70	0,15	5,4	-	

Quadro 4. Resultados das análises preliminares efetuadas com a amostra PIA.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Acidez (g ác. cí- trico/ 100 cc)	Conc. salina (%)	Relação sólido/ líquido	Uniformidade, coloração, textura
1	10	5,60	0,15	5,4	2:1	Má uniformidade, tanto na coloração como na textura; coloração variando de verde pardacento a amarelo; textura de mole a dura; salmoura turva.
2	7	5,60	0,13	5,4	1,5:1	Idem
3	8	5,70	0,15	5,4	1,5:1	Idem
4	-	5,60	0,16	5,4	1,5:1	Idem
5	-	5,70	0,17	5,4	1,5:1	Idem
6	-	5,60	0,20	5,4	1,5:1	Idem
<u>Calo- res médios</u>	8,3	5,63	0,16	5,4	-	



Quadro 5. Resultados das análises preliminares efetuadas com a amostra PE.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Acidez (g ác. cí- trico/ 100 cc)	Conc. salina (%)	Relação sólido/ líquido	Uniformidade, coloração, textura
1	8,5	5,50	0,20	7,0	2:1	Uniformidade má no que se refere à textura; grãos moles apertando de duros; formação de uma pasta de grãos macerados no fundo da lata; salmoura turva; coloração uniforme, verde.
2	7,5	5,60	0,20	7,0	2:1	
3	6,5	5,60	0,20	7,0	2:1	
4	-	5,60	0,20	7,0	2:1	
5	-	5,60	0,20	7,0	2:1	
6	-	5,60	0,20	7,0	2:1	Idem
Valores médios	7,5	5,60	0,20	7,0	2:1	

Quadro 6. Resultados das análises preliminares efetuadas com a amostra PF.

Lata nº	Vácuo (pol)	pH	Acidez (g ác. cí- trico/ 100 cc)	Conc. salina (%)	Relação sólido/ líquido	Uniformidade, coloração, textura
1	0	5,50	0,13	3,7	1,5:1	Boa uniformidade, tanto na colo- ração (verde) quanto na textura (macia); salmoura límpida.
2	0	5,50	0,11	3,2	1:1	Idem
3	0	5,50	0,13	3,7	1,5:1	Idem
4	-	5,50	0,12	3,7	1,5:1	Idem
5	-	5,40	0,11	3,2	1:1	Idem
6	-	5,50	0,12	3,2	1:1	Idem
Valo- res médios	0	5,48	0,12	3,45	-	



Quadro 7. Número de latas contaminadas nas diversas amostras e número de microrganismos isolados

Amostra	Latas examinadas	Latas contaminadas	Microrganismos isolados
	<u>Nº</u>	<u>Nº</u>	<u>Nº</u>
PA	3	1	2
PB	3	2	3
PC	3	1	1
PD	3	0	0
PE	3	2	4
PF	3	2	2

Quadro 8. Características dos microrganismos encontrados nas diferentes amostras.

Amostra	Características	Identificação
PA	Cócos Gram-positivos, não termo-resistentes	<u>Micrococcus</u> sp
PB	Idem	Idem
PC	Idem	Idem
PD	--	--
PE	Cócos Gram-positivos, não termo-resistentes e bastonetes Gram-positivos, esporulados com maior resistência	<u>Micrococcus</u> sp <u>Bacillus subtilis</u> <u>B. megatherium</u> e <u>B. circulans</u>
PF	Bastonetes Gram-positivos esporulados, com média resistência térmica	<u>B. subtilis</u> e <u>B. megatherium</u>

## LITERATURA

1. American Public Health Association. "Recommended Methods for the Microbiological examination of foods". Am. Publ. Health Assn., Inc., New York, N.Y., U.S.A., 1958.
2. BAUNGARTNER, J.C. e HERSON, A.C. Conservas Alimentícias. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha, 1959.
3. BERGERET, G. Conservas vegetales: frutas y hortalizas. Salvat Editores, S.A. Barcelona, Espanha, 1953. •
4. BREED, R.S., MURRAY, E.G.D. e SMITH, N.R. "Bergey's manual of determinative bacteriology". 7a. edição. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, U.S.A., 1957.
5. MENEZES, T.J.B. e LEITÃO, M.F.F. Estudo comparativo do palmito enlatado. A publicar. 1966.
6. Society of American Bacteriologists. "Manual of methods for pure culture study of bacteria". 9a. edição. Society of American Bacteriologists, Geneva, N.Y., U.S.A., 1948.
7. TOWNSEND, C., SOMERS, I., LAMB, F. e OLSON, N.A. "A laboratory manual for the canning industry". 2a. edição. National Canners Association, D.C., U.S.A., 1957.
8. United States Department of Agriculture, United States standards for grades of canned peas. U.S. Dept. of Agriculture, Washington, D.C., U.S.A.





PRODUÇÃO DE AFLATOXINA POR ESPÉCIES DE *ASPERGILLUS*  
DO BRASIL (EST. DE S. PAULO), DOS ESTADOS UNIDOS  
E DA INGLATERRA

Hatuê Nakamura  
Fumio Yokoya

RESUMO

Um total de 41 linhagens do fungo *Aspergillus* isoladas de diversas fontes naturais do Estado de São Paulo, foram comparadas com as linhagens obtidas dos laboratórios dos Estados Unidos e Inglaterra, em relação à capacidade de produzir aflatoxina.

As linhagens estrangeiras produziram quantidades apreciáveis de aflatoxina B e G, ao passo que as linhagens isoladas em nosso laboratório produziram quase que unicamente a toxina B. A linhagem estrangeira que produziu maior quantidade de aflatoxina B foi aquela obtida do laboratório do Texas, E.U.A., com 2.135 mg de toxina em 50 ml do meio. A linhagem mais produtiva por nós isolada foi um pouco superior, com 2.553 mg por 50 ml do meio. Esses valores são algo inferiores ao valor mais alto encontrado na literatura, porém, a diferença pode ser devida aos efeitos do meio e às condições de cultura e de sua manutenção.

SUMMARY

PRODUCTION OF AFLATOXIN BY SPECIES OF *ASPERGILLUS* FOUND IN BRAZIL (STATE OF S. PAULO), UNITED STATES AND ENGLAND. A total of 41 strains of fungus *Aspergillus* were isolated from several natural sources of the State of São Paulo, Brazil. The ability to produce aflatoxin by these strains was compared with the high producing strains selected in the United States and England.



The foreign strains produced appreciable amount of the aflatoxin B and G but the strains from São Paulo produced mainly the aflatoxin B. A strain from Texas, U.S.A., was the best toxin producer among imported strains, with 2,135 mg per 50 ml medium. Our best strain produced 2,553 mg per 50 ml medium, which was the largest amount that we obtained. These figures obtained in this laboratory is somewhat less than the largest amount reported by Davis et al. This difference may be due to the difference in media and the conditions of growth and maintenance of the culture.

## INTRODUÇÃO

A aflatoxina foi descoberta na Inglaterra, em 1961, quando aves e outros animais domésticos, em grande número, sucumbiram de maneira inexplicável. Verificou-se, depois, que ela é constituída por uma mistura de metabólitos secundários de vários fungos do gênero *Aspergillus* e também do *Penicillium puberulum*. Seu nome derivou-se do agente produtor primeiramente isolado, o *Aspergillus flavus*, de amendoim contaminado (8). Recentemente, ela tem sido objeto de considerável interesse por parte de vários pesquisadores, devido à sua alta toxicidade e freqüente ocorrência em diversos produtos alimentícios (7).

No Brasil, onde as condições climáticas favorecem o desenvolvimento do agente produtor, a aflatoxina constitui um sério problema. Tanto é que foram constatadas grande incidência e altas concentrações no amendoim nacional e produtos derivados (6), o que representa, além dos prejuízos, sério perigo aos consumidores.

Numerosos estudos evidenciam que a habilidade em produzir essa toxina varia de linhagem para linhagem, sendo também largamente influenciada por outros fatores, como temperatura (9), nutrientes (1, 3, 4, 5, 10), etc.

A finalidade dêste trabalho é relatar os resultados da produção da toxina por vários fungos do gênero *Aspergillus*, isolados de diversos produtos do Estado de São Paulo. Dêstes, os melhores produtores de aflatoxina foram comparados com os isolados em laboratórios dos Estados Unidos (Texas e Peoria) e da Inglaterra.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As linhagens de *Aspergillus* foram isoladas de amendoim debulhado, de café em grão e torta de amendoim, originários de diferentes regiões do Estado de São Paulo. Também foram utilizados os fungos contaminantes de placas no laboratório. No total, foram comparadas 41 linhagens do gênero *Aspergillus*.

Os fungos foram isolados, semeando-se em placas contendo meio sólido de malte-batata. A identificação do fungo foi feita com base nos aspectos macroscópicos (côr e aspecto) e microscópicos (conidióforo, hifas).

Foram empregados os meios de cultura de malte-batata (MB) e Czapeck ágar modificado (10% de sacarose) para manutenção da cultura isolada, e o YES (2% de extrato de levedura e 20% de sacarose) (3), para produção da toxina.

Os fungos *Aspergillus flavus* numerados I, II, III, V e VI e *A. parasiticus*, correspondente ao número IV, foram obtidos do laboratório de Texas, E.U.A.; *A. flavus* de números VII, VIII e IX, do NRRL de Peoria, E.U.A.; e *A. flavus* X e *A. parasiticus* XI, do laboratório da Inglaterra. Os fungos *Aspergillus* isolados no CTPTA foram numerados de 1 a 41.

Os fungos foram cultivados em frascos Erlenmeyer de 250 ml, contendo 50 ml de meio. Os frascos foram inoculados com duas alçadas da cultura em ágar



inclinado de 1 a 3 semanas de idade e incubados a 26°C em cultura estacionária por 6 a 9 dias.

A extração e a determinação preliminar da toxina foram feitas pelo método padrão de Coomes-Feuelli (2), com as seguintes modificações: adição de 30 ml de metanol ao frasco contendo 50 ml de meio com o fungo desenvolvido e aquecimento em ebulição por 90 a 120 minutos sob refluxo.

A extração da toxina foi feita com cinco lavagens de 25 a 30 ml de clorofórmio. O extrato clorofórmico foi concentrado a 20 ml (solução A) e, pela diluição de cinco vezes, obteve-se a solução B (2 ml foram diluídos para 10 ml).

Para a cromatografia em camada delgada, o extrato foi aplicado sobre a placa nas seguintes quantidades: 8 µl da solução A e 8 µl da solução B e, finalmente, 2 µl da solução B. O eluente usado foi de acetato de etila e metanol na proporção de 3:1 (11).

A determinação quantitativa mais exata da aflatoxina foi feita pelo método da extinção e as diluições por tentativas. Nesta determinação, o método do autor acima citado foi modificado ainda mais, iniciando-se com a separação do micélio (M) do líquido sobrenadante (S). A extração da toxina do micélio (M) foi feita adicionando-se 30 ml de metanol e 20 ml de água, aquecendo-se à ebulição por 90 a 120 minutos sob refluxo. O micélio foi, a seguir, lavado com 20 ml de água e a toxina da solução foi extraída por cinco tratamentos com 20 ml de clorofórmio. O extrato clorofórmico foi, então, concentrado a 50 ml (solução A); 0,75 ml da solução A foi diluída a 50 ml (solução B) e 5 ml da solução B diluída a 10 ml (solução C).

A extração da toxina do líquido sobrenadante (S) foi feita adicionando-se 30 ml de metanol e aquecendo-se à ebulição por 90 a 120 minutos sob refluxo. Após lavagem do frasco com mais ou menos 25 ml de água,

a toxina foi extraída por cinco tratamentos com 25 ml de clorofórmio cada um, em funil de separação.

O extrato clorofórmico foi concentrado a 50 ml (solução A), 1 ml da solução A foi diluída a 50 ml (solução B) e 5 ml da solução B a 10 ml (solução C).

Os extratos (solução C) foram aplicados na placa de cromatografia de camada delgada nas seguintes quantidades: 2,5, 5,0, 7,5, 10,0 e 12,5. O eluente utilizado foi 5% de metanol em clorofórmio.

Apesar de se verificar uma pequena redução na fluorescência em eluente acetato de etila-metanol, este foi usado na determinação preliminar da toxina, pois parece que existem certas substâncias, além da aflatoxina, que têm o mesmo Rf em eluente clorofórmio-metanol (11). Contudo, o último foi usado na determinação quantitativa mais exata, pois para este eluente, a quantidade mínima de aflatoxina com fluorescência observável é de 0,0004 µg (2).

A quantidade de aflatoxina foi calculada, em miligramas, usando-se a seguinte fórmula:

$$A = \frac{4 \times 10^{-4} \times V}{V'}$$

onde: A = Quantidade de aflatoxina em miligramas.

V = Relação entre o produto dos volumes finais de cada diluição em ml e o produto dos volumes transportados.

V' = Menor volume no qual foi observado a fluorescência.

A escolha das condições de cultivo, bem como do método de extração, identificação e dosagem da aflatoxina foi feita observando as possibilidades do laboratório do CTPTA, facilidade na execução e, principalmente, a qualidade e quantidade possíveis de aflatoxina a produzir.



## RESULTADOS

Os resultados das determinações preliminares da aflatoxina produzida por diversas linhagens de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, recebidas dos laboratórios dos Estados Unidos e da Inglaterra, estão apresentados no Quadro 1. Para essa comparação, foi adotada uma escala arbitrária de 1 a 10 para expressar as diferentes quantidades de aflatoxina medidas pela fluorescência.

Todos êsses fungos produziram quantidades de toxinas B e G, exceto o *A. flavus* 134-50-14-1-8a do laboratório de Texas, E.U.A., que produziu, somente, a toxina B. O que mais produziu a aflatoxina B, foi o *A. flavus* 198-260, dêsse mesmo laboratório.

As linhagens de *Aspergillus* isoladas de diversas fontes naturais do Estado de São Paulo produziram quantidades variáveis da toxina (Quadro 2). A mesma escala acima citada foi usada como medida de aflatoxina nesse caso.

A maioria dêsses fungos sintetizou apenas a aflatoxina B e, alguns dêles perderam a vitalidade ao ser repicados. As linhagens mais produtivas apresentaram uma quantidade de toxina ligeiramente superior às das linhagens importadas.

A classificação das diversas linhagens de *Aspergillus* quanto à produção de aflatoxina está apresentada no Quadro 3.

Os resultados mostram que a maioria dos fungos isolados de diferentes fontes naturais do Estado de São Paulo classifica-se em "Médio produtor" das toxinas B e G.

A classificação dos fungos em bom, médio e mau produtor de aflatoxina, foi feita com base nos resultados observados quanto à fluorescência nos pontos onde foram aplicados 8 µl da solução A (a), 8 µl da solução B (b<sub>1</sub>) e 2 µl da solução B (b<sub>2</sub>).

Quadro 1. Produção de aflatoxina, medida em escala arbitrária de 1 a 10, das linhagens de *Aspergillus* recebidas de diversos laboratórios.

Linhagens		Aflatox. B			Aflatox. G		
Número dado	Número de origem	a	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	a	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>
I	134-50-14-1-8a	7	4	-	-	-	-
II	134-23-6-13-19c	6	3	-	6	3	-
III	24-1-1a	6	3	-	5	2	-
IV	10-4-db	4	1	-	5	2	-
V	198-26c	9	6	2	6	3	-
VI	199-7a	4	1	-	5	2	-
VII	NRRL 2999	5	2	-	7	4	-
VIII	NRRL 3000	4	1	-	6	3	-
IX	NRRL 3240	4	1	-	6	3	-
X	3734/10	4	1	-	6	3	-(+)
XI	CMI 15957	4	1	-	6	3	-(+)

a = resultado correspondente a 8 µl da solução A.

b<sub>1</sub> = resultado correspondente a 8 µl da solução B.

b<sub>2</sub> = resultado correspondente a 2 µl da solução B.

- = negativo.

Nota: Média de duas determinações, exceto aquelas assinaladas (+).

Valores menores do que 1 foram considerados negativos.



**Quadro 2** Produção de aflatoxina, medida em escala arbitrária de 1 a 10, das linhagens *Aspergillus* isoladas das diversas fontes naturais do Estado de São Paulo.

Linhagens	Aflatoxina B			Aflatoxina G		
	a	b1	b2	a	b1	b2
1	8	5	1	-	-	-
2	4	1	-	2	-	-
3 (+)	-	-	-	-	-	-
4	4	1	-	3	-	-
5 (+)	-	-	-	-	-	-
6	7	4	-	-	-	-
7	6	3	-	-	-	-
8	1	-	-	-	-	-
9	10	7	3	-	-	-
10	8	5	1	-	-	-
11	1	-	-	-	-	-
12	1	-	-	-	-	-
13 (+)	-	-	-	-	-	-
14	8	5	1	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-
16 (+)	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-
18	2	-	-	-	-	-
19	10	7	3	-	-	-
20	2	-	-	-	-	-
21	7	4	-	-	-	-
22	3	-	-	-	-	-
23	7	4	-	-	-	-
24	1	-	-	-	-	-
25	6	3	-	-	-	-
26	4	1	-	6	3	-
27	7	4	-	-	-	-
28	6	3	-	-	-	-
29	8	5	1	-	-	-
30 (++)	4	1	-	-	-	-
31	10	7	3	-	-	-
32	8	5	1	-	-	-
33	4	1	-	-	-	-
34	8	5	1	-	-	-
35	7	4	-	-	-	-
36	8	5	1	-	-	-
37	6	3	-	-	-	-
38	3	-	-	-	-	-
39	4	1	-	6	3	-
40	5	2	-	-	-	-
41 (-)	8	5	1	-	-	-

(+) não desenvolveu

(++) não desenvolveu na segunda determinação

b1 negativo; a resultado correspondente a 8  $\mu$ l da solução A

b2 resultado correspondente a 8  $\mu$ l da solução B

b2 resultado correspondente a 2  $\mu$ l da solução B

Nota Média de duas determinações, exceto o assinalado por (-)  
Valores menores que 1 foram considerados negativos

Os limites adotados para essa classificação foram os seguintes:

a	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	
10	7	3 )	
9	6	2 )	Bom produtor
8	5	1 )	
7	4	0 )	
6	3	0 )	Médio produtor
5	2	0 )	
4	1	0 )	
3	0	0 )	
2	0	0 )	Mau produtor
1	0	0 )	
0	0	0 )	

Os números de 0 a 10 são os valores arbitrários citados anteriormente.

Quadro 3. Classificação das linhagens de *Aspergillus* quanto à produção de aflatoxina. Resultados expressos em porcentagem de linhagens. Os fungos cuja produção de aflatoxina medida em valor numérico em a é 8-10, ou de 1-3 em b<sub>2</sub>, foram considerados "bons produtores"; os de valor numérico em a de 5-7, ou de 1-4 em b<sub>1</sub>, foram considerados "médios produtores". Os demais foram considerados como "maus produtores".

Classificação	Aflatoxina B	Aflatoxina G
(Linhagens recebidas)		
Bom produtor	9,09	0,0
Médio produtor	90,90	90,90
Mau produtor	0,0	9,09
(Linhagens das fontes naturais)		
Bom produtor	24,39	0,0
Médio produtor	41,46	4,87
Mau produtor	34,15	95,12



Os resultados das determinações quantitativas da aflatoxina B produzida pelas linhagens mais eficientes, foram expressos em miligramas de toxina por frasco de 50 ml de meio (Quadro 4). O fungo número 9, isolado no laboratório do CTPTA, foi o melhor produtor de aflatoxina B (2.553 mg de toxina por 50 ml de meio), seguindo-se o *A. flavus* 198-260, do laboratório do Texas, E.U.A.

A proporção de toxina presente no micélio em relação à do líquido sobrenadante foi variável, sendo igual, em alguns casos, em outros, maior ou menor.

Quadro 4. Determinação quantitativa, em mg, da aflatoxina B, das linhagens mais eficientes. Médias de duas determinações.

Linhagens Número	Aflatoxina B em mg/50 ml		
	Micélio	Sobrenadante	Total
I	0,547	0,900	1,447
V	0,700	1,435	2,135
9	1,453	1,100	2,553
10	0,455	0,366	0,821
19	0,633	1,100	1,733
21	0,633	0,600	1,233
25	0,547	0,600	1,147
29	0,517	0,600	1,117
31	0,987	0,765	1,752
32	0,467	0,400	0,867
34	0,367	0,435	0,802
35	0,547	0,500	1,047
36	1,180	0,604	1,784
41 (1)	1,230	0,333	1,563
41 (2)	0,900	0,250	1,150
41 (3)	0,900	0,250	1,150

(1) Cultura 41, mantida em Czapek ágar inclinado.

(2) Cultura 41, mantida em MB e repicada duas semanas antes de ser inoculada, em Czapek ágar inclinado.

(3) Cultura mantida em MB.

## DISCUSSÃO

Pelo exame geral dos resultados, pode-se ter a impressão de que os fungos recebidos dos laboratórios dos Estados Unidos e da Inglaterra são os melhores produtores de aflatoxina. No entanto, isto não é verdadeiro, pois enquanto estes foram selecionados para essa finalidade, os isolados no laboratório do CTPTA ainda estão passando pela "fase de seleção". Nesse sentido, verifica-se que muitos dos fungos isolados produzem quantidades razoáveis de aflatoxina B. E é de nosso interesse selecionar fungos produtores de grande quantidade de toxina B, uma vez que esta é a mais tóxica e, geralmente, produzida em maior quantidade. É, também, muito interessante observar que poucos fungos isolados no laboratório do CTPTA produzem aflatoxina G.

Os resultados quantitativos do Quadro 4 mostram certas discrepâncias quando comparados com os dos Quadros 1 e 2. Nota-se, também, diferenças entre os dois valores da determinação quantitativa. Isto pode ser atribuído à grosseira comparação inicial e, principalmente, porque nem sempre o fungo se comporta da mesma forma, embora se desenvolva sob condições idênticas. Observou-se, que o fungo deixava de se desenvolver ou de produzir conídios com a mesma rapidez e intensidade, estacionando-se, às vezes, sem induzi-los e permanecendo esbranquiçado com aspecto de degeneração. Por exemplo, o *A. parasiticus* 10-4-db do laboratório de Texas, E.U.A., em todas as determinações permaneceu assim, formando um composto de agradável aroma.

Parece-nos que para uma eficiente produção de aflatoxina é necessário um bom desenvolvimento do fungo com produção de conídios. O meio de cultura do qual o agente produtor é isolado também exerce grande influência, pois constatou-se uma redução da toxina nos fungos mantidos em meio de malte-batata.

Os mais variados valores de produção de aflatoxina são encontrados na literatura, sendo o máximo



de 63 mg por 100 ml de meio (3). Porém, é difícil afirmar qual é o melhor meio, pois enquanto uns são sólidos, outros são líquidos e, além disto, usam-se diferentes condições de cultura.

Como foi encontrado amendoim com até 20 p.p.m. de toxina, era de se esperar valores mais altos de aflatoxina, porém, estes foram inferiores aos obtidos por Davis e colaboradores (3).

Alguns autores admitem que fungos isolados e repicados várias vezes perdem a capacidade de produzir aflatoxina (5); isto pode ter ocorrido no presente caso. Esse inconveniente talvez possa ser eliminado pela inoculação temporária do fungo num produto alimentício apropriado.

#### LITERATURA

1. CODNER, R.C., SARGEANT, K. & YEO, R. Production of aflatoxin by the culture of strains of *Aspergillus flavus-oryzae* on sterilized peanuts. Biotechnol. Bioeng. 5: 185-192, 1963.
2. COOMES, T.J. & FEUELL, A.J. Recommended procedures for the detection and estimation of aflatoxin B<sub>1</sub> in groundnuts and groundnut materials. Tropical Products Institute, Ministry of Overseas Development, London. Report n<sup>o</sup> C13, 1965.
3. DAVIS, N.D. DIENER, U.L. & ELDRIDGE, W.D. Production of aflatoxin B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> by *Aspergillus flavus* in a semisynthetic medium. Appl. Microbiol. 14: 378-380, 1966.
4. DIENER, U.L. & DAVIS, N.D. Aflatoxins: serious problems in seeds, feeds and food crops. Highlights of agricultural research publ. Agricultural Expt. St., Auburn Univ., Auburn, Alabama, 1966.

5. DIENER, U.L. & DAVIS, N.D. Aflatoxin production by isolates of *Aspergillus flavus*. *Phitopathol.* 56: 1390-1393, 1966.
6. FONSECA, H. Levantamento do teor de aflatoxina em tortas e farelos de amendoim (*Arachis hypogaea*, L.) no Estado de São Paulo. Tese de doutoramento apresentada à E.S.A.L.Q. - U.S.P. - Piracicaba, 1968.
7. MATELES, R.I. & WOGAN, G.N. Aflatoxins. Ed. A.H. Rose, J.F. Wilkinson, Academic Press., London and New York, I: 25-37, 1967.
8. SARGEANT, T., SHERIDAN, A., O'KELY, J. & CARNAGHAN, R.B.A. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. *Nature* 192: 1096-1097, 1961.
9. SCHROEDER, H.W. & HEIN, JR., H. Aflatoxins: Production of the toxins in vitro in relation to temperature. *Appl. Microbiol.* 15: 441-445, 1967.
10. SHOTWELL, O.L., HESSFELTINE, C.W., STUBBLEFIELD R.D. & SORENSON, W.G. Production of aflatoxin on rice. *Appl. Microbiol.* 14: 424-428, 1966.
11. YOKOTSUKA, T., SASAKI, M., KIKUCHI, T. ASSO, Y. & NOBUHARA, A. Production of fluorescent compounds other than aflatoxins by japanese industrial molds. *Biochemistry of "Some Foodborne Microbial Toxins"*. Ed. R.I. Mateles e G.N.Wogan. The MIT Press, Cambridge, Maas, 1967.





## O EFEITO DA MATÉRIA INSAPONIFICÁVEL NO COMPORTAMENTO DO ÓLEO DE CAFÉ \*

L. Hartman  
Regina C.A. Lago  
J. S. Tango  
Cyro G. Teixeira

### RESUMO

A matéria insaponificável do óleo do grão de café foi mostrada ser responsável pelo ponto de fusão comparativamente baixo (aproximadamente 8°C) desse óleo. O ponto de fusão dos ácidos graxos do óleo de café, livre de matéria insaponificável, é de 40-42°C, e sua esterificação com glicerol produz um óleo com um ponto de fusão de 34-36°C. A matéria insaponificável é, provavelmente, responsável pelas altas perdas de refinação do óleo de café, visto a atividade de superfície de seus constituintes principais facilitar saponificação parcial ou emulsão do óleo neutro, durante o tratamento com álcalis, especialmente em óleos com alta acidez.

### SUMMARY

THE EFFECT OF UNSAPONIFIABLE MATTER ON THE PROPERTIES OF COFFEE SEED OIL. The unsaponifiable matter of coffee seed oil has been shown to be responsible for the comparatively low melting-point (approximately 8°C) of this oil. The melting point of coffee oil fatty acids, free of unsaponifiable matter, is 40-42°C, and their esterification with glycerol produces an oil with a melting point of 34-36°C. The unsaponifiable matter is probably responsible for high refining losses of coffee oil since the surface activity of its main constitu-

(\*) Transcrito do Jour. Amer. Oil Chem. Soc. 45: 577-579. 1968.



*ents facilitates a partial saponification or emulsification of neutral oil during the treatment with alkalis, especially in oils with high acidity.*

## INTRODUÇÃO

O teor de óleos em sementes de café varia de 7 a 16%. Como a produção mundial de café é de aproximadamente três milhões de toneladas anuais, conclui-se que este produto é uma fonte potencial de mais ou menos trezentas mil toneladas de óleo. Contudo, sob as condições atuais, quase todo este óleo é perdido no pó, após o preparo da bebida. A recuperação de óleo dos resíduos da fabricação de café solúvel oferece dificuldades técnicas. No Brasil, certa quantidade de café de baixa qualidade (café expurgo) é processada para óleo e adubo, e tentativas são feitas para converter o óleo em produto comestível. Um problema encontrado é o teor usualmente alto de matéria insaponificável do óleo de café, que de acordo com a literatura (3, 9) pode alcançar cerca de 12%.

Os principais constituintes dessa matéria insaponificável são dois álcoois di-terpenóides, o cafestol ( $C_{20}H_{28}O_3$ ) e o kahweol ( $C_{20}H_{24}O_3$ ). Este último difere do cafestol pela presença de duas ligações duplas adicionais. Ambos são dióis com um grupo hidróxilo primário e um terciário. Suas constituições foram investigadas por vários pesquisadores. Um resultado recente foi a elucidação da estrutura do kahweol por Djarassi e colaboradores (2).

Segundo Kaufmann e Hamsagar (7), ambos os álcoois são presentes no óleo de café na forma de monoésteres de ácidos graxos, na quantidade de cerca de 18,5% do óleo total. O cafestol e kahweol (cerca de 1%) são presentes sob a forma de álcoois livres, ao lado de ésteres de fitosterina (1,5%), fosfatídeos (4%) e outros componentes menores. O teor de triglicéridos é de cerca de 75%.

O alto teor de matéria insaponificável é acompanhado de algumas outras características peculiares ao óleo de café. Seu baixo ponto de fusão, não está de acordo com sua composição de ácidos graxos, e a sua perda de refinação é uma das mais altas observadas em óleos vegetais. A finalidade da presente investigação foi estabelecer se esse comportamento do óleo de café pode ser ou não relacionado à presença da matéria insaponificável.

## MATERIAL E MÉTODO

Para o estudo em referência, foram utilizadas cinco amostras de óleo de café, seguintes: 1 e 2, de produtos comerciais; 3, de amostra de óleo extraída com solvente na usina-piloto do Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, a partir de resíduo de café solúvel; 4, amostra de óleo extraído com hexano no laboratório do Centro Tropical, de grãos de café tipo mole; e 5, um óleo extraído de café expurgo. Examinou-se, ainda, uma fração de óleo de café com alto teor de matéria insaponificável obtido por destilação molecular.

O trabalho analítico, compreendeu as seguintes determinações: a) teor de ácidos graxos livres (expresso como % de ácido oléico); b) matéria insaponificável; c) índice de iodo; e d) índice de acetila (11). O conteúdo de óleo neutro foi determinado pelo método de Wesson, conforme descrito por Jamieson (6) e pelo método cromatográfico (12). A composição de ácidos graxos nas várias amostras foi obtida por análise cromatográfica de gás dos ésteres de metil, empregando-se o modelo C.G. 12 I.P. (Instrumentos Científicos Ltda., São Paulo), provide de um detector de termocondutibilidade.

Para a separação dos constituintes polares e não polares, utilizou-se, tentativamente, o método de extração de contracorrente de Galanos e Kopoulas (4).



## Efeito sobre o ponto de fusão

Os dois principais ácidos graxos de óleo de café são o palmítico e o linoléico. Ocorrem quantidades menores de esteárico, oléico e de ácidos graxos de peso molecular mais alto, tais como o araquídico e behênico. Os teores de ácido palmítico em amostras examinadas neste laboratório foram mais altos que os citados na literatura (35 a 41%, ao invés de 25 a 28%), mas a composição geral era semelhante. Com base nas proporções consideráveis de ácidos graxos saturados, isto é, 40-45%, poder-se-ia esperar que o óleo de café tivesse consistência sólida ou semi-sólida à temperatura ambiente. Na literatura (10), todas as amostras examinadas eram óleos líquidos.

Com o objetivo de verificar se a matéria insaponificável era responsável pelo baixo ponto de fusão de óleo de café, 100 g da amostra de óleo nº 1 foram saponificadas com a solução alcoólica de hidróxido de potássio e a matéria insaponificável extraída com éter dietílico. Os ácidos graxos foram recuperados por acidificação com ácido clorídrico, lavados com água e secados a vácuo. Uma amostra (20 g) foi reesterificada com uma quantidade teórica de glicerol (2 g), aquecendo-se a 180°C durante 5 horas, a vácuo, na presença de 0,4% de cloreto de estanho como catalizador. A acidez residual de 13,7% foi removida pela lavagem da solução etérea do produto esterificado com uma solução aquosa de carbonato de potássio a 10% e, a seguir, a solução etérea do produto foi colocada em refluxo com carvão ativado. Após filtração, remoção de solvente e secagem a vácuo, o ponto de fusão do produto clarificado foi determinado pelo método capilar.

Para verificar se o aquecimento com cloreto de estanho e o resultante rearranjo ao acaso tinham influência no ponto de fusão, uma amostra de óleo nº 1, neutralizada com álcali, foi aquecida com a mesma quantidade do catalizador e sob as mesmas condições que o

produto reesterificado. Uma outra amostra do óleo nº 1 neutralizado, foi aquecida a 90° durante 2 horas, a vácuo, após adição de 0,25% de metilato de sódio, para se obter rearranjo ao acaso.

Ensaio de reesterificação foram também efetuados com os óleos de números 2 e 3, empregando-se 2% de ácido tolueno-para-sulfônico a 120-130°C, como catalizador. As características dos produtos obtidos são apresentadas no Quadro 2. As amostras reesterificadas tiveram os pontos de fusão muito mais altos que os produtos originais e os rearranjos ao acaso com a matéria insaponificável intacta. A redução dos índices de iodo, após a remoção da matéria insaponificável, explica-se pelos altos valores do índice de iodo para os álcoois diterpenóides (160,3 para o cafestol e 325,2 para o "kahweol"). Assim, a matéria insaponificável parece ser responsável pelo baixo ponto de fusão do óleo de café. Este efeito pode ser análogo ao citado em algumas patentes recentes, ou seja, que a adição de ésteres de dextrina e de dissacarídes de ácidos graxos abaixa o ponto de solidificação dos óleos (1).

### Efeito sobre a refinação

O óleo de café extraído comercialmente no Brasil, era usado principalmente na fabricação de sabão. Tentativas para convertê-lo em óleo comestível encontravam dificuldades consideráveis. Além de apreciável teor de matéria insaponificável indesejável num óleo comestível, a perda de refinação do óleo de café é muito alta. Além disso, o café utilizado para extração de óleo é, via de regra, de baixa qualidade e o teor de ácidos graxos livres dos óleos extraídos é raramente abaixo de 10%. Tais óleos apresentam altas perdas quando refinados de acordo com o chamado "cup-method" e, ocasionalmente, há difícilmente alguma separação de óleo da "bôrra".



Para determinar a quantidade de "óleo neutro" ou perda mínima de refinação que se poderia esperar em óleo de café, todas as cinco amostras foram submetidas ao conhecido método de Wesson (6). Para fins comparativos, a quantidade de óleo neutro foi determinada segundo o método cromatográfico (12). Os resultados do teor de ácidos graxos livres, quantidade de matéria insaponificável e quantidade de óleo neutro determinados pelos métodos de Wesson e cromatográfico, estão indicados no quadro 3. Ao passo que os teores de óleo neutro estabelecidos por esses dois métodos se assemelham nos óleos vegetais comuns, os dados constantes do quadro 3 revelam que, no caso do óleo de café, o teor de óleo neutro obtido pelo método Wesson é constantemente mais baixo (isto é, perdas mais altas) que o obtido pelo processo cromatográfico. Essas diferenças parecem aumentar com a quantidade de ácidos graxos livres. Pode-se considerar que os sabões no processo de Wesson facilitam uma saponificação parcial de óleo neutro pelo hidróxido de potássio utilizado em grande excesso na presença de cafestol e "kahweol".

Esta suposição foi verificada como se segue:

a) Ao óleo nº 4, que mostrou o mais baixo teor de ácidos graxos livres (2,6%) e a menor diferença no rendimento de óleo neutro obtido pelo procedimento de Wesson e cromatográfico, juntaram-se 8,0% de ácido oléico puro e determinou-se o óleo neutro pelo processo Wesson. O rendimento de óleo neutro (sem considerar o peso do ácido oléico adicionado) foi de 92,3%, isto é, 1,5% menor do que no óleo original (ver Quadro 3).

b) O óleo nº 1 foi submetido a cinco tratamentos sucessivos de Wesson, reconstituindo-se, após cada tratamento, sua acidez original pela adição de ácido oléico puro. Observou-se uma contínua diminuição do rendimento de óleo neutro; a quantidade

dêste depois do quinto tratamento, era de 68,4%, comparado com 77,8%, depois do primeiro tratamento. Um óleo de algodão submetido a tratamento semelhante aos dos óleos nº 1 e 4, sofreu perdas de óleo neutro que atingiram apenas alguns décimos de por cento, após cada tratamento pelo método de Wesson.

c) O óleo nº 1 foi tratado segundo uma modificação do processo Wesson, em que o hidróxido de potássio foi substituído por carbonato de potássio, o qual era esperado ter pouco efeito saponificante. O rendimento de óleo neutro foi aumentado de 77,8 para 81,6%. A substituição do hidróxido de potássio pelo carbonato de potássio não alterou os resultados em outros óleos vegetais (5).

Conseqüentemente, o processo Wesson tem pouca significância no caso do óleo de café; dependendo da acidez, várias quantidades de óleo neutro podem ser saponificadas ou emulsionadas. Este comportamento peculiar explica as perdas excessivas de óleo na refinação industrial com álcalis. Esta refinação é efetuada a temperaturas elevadas, que tendem aumentar as perdas, graças à saponificação do óleo neutro.

Tentativas foram feitas com o objetivo de remover os mono-ésteres de cafestol e "kahweol", sem prévia saponificação do óleo de café, utilizando-se das propriedades polares dêstes ésteres. Usou-se, para êsse fim, o método de extração em contracorrente de Galanos e Kapoulas (4), que consiste na partição de lípides polares e não polares entre etanol de 87% e éter de petróleo. A separação foi efetuada com óleo nº 2, previamente neutralizado, e também com uma fração rica em matéria insaponificável (26,1%), obtida por destilação molecular de óleo de café. Apenas 3,4% do óleo nº 2 e 4,9% da fração proveniente de destilação molecular passaram à fase etanólica, em grande parte álcoois e ácidos graxos livres. A matéria insa-



ponificável do óleo nº 1 foi reduzida de 10,9% para apenas 9,5%, pelo primeiro tratamento segundo Wesson, permanecendo praticamente inalterada após o quinto tratamento. O teor da matéria insaponificável desse óleo aumentou de 10,9 para 12,7%, no "óleo neutro" obtido pelo procedimento cromatográfico, demonstrando que a alumina ativada deixou de adsorver os mono-ésteres sob as condições do experimento.

O fraco caráter polar destes ésteres resulta, obviamente, da fraca reatividade do seu grupo hidróxilo terciário. Assim, Kaufmann e Gupta (8), obtiveram pela acetilação do "kahweol" puro, à temperatura ambiente, cerca de 10% de di-acetato e 90% de mono-acetato. Contudo, acetilação da matéria insaponificável do óleo nº 1, efetuada segundo o método oficial 5d da "American Oil Chemists Society", deu o índice de acetila de 239,6 (o índice de acetila calculado para cafestol, 280,1), indicando a presença de dióis.

As perdas de refinação do óleo de café poderiam ser reduzidas pelo uso do carbonato de sódio, ao invés de hidróxido de sódio como agente de refinação. Porém, isso aumentaria a dificuldade de se obter o branqueamento satisfatório, a menos que fôsse aplicada uma rerrefinação com soda cáustica, com concomitante perdas adicionais do óleo neutro. Mais importantes, ainda, são problemas nutricionais apresentados pela matéria insaponificável residual no óleo refinado, que demandam cuidadosa investigação antes do óleo poder ser recomendado com segurança para o consumo humano.

Quadro 1. Composição de ácidos graxos de óleos de café.

Ácidos graxos	Result.obtidos no Centro Tropical	Result.obtidos por Kaufmann e Hamsagar (7)	Resultados citados por Eckey (3)
Mirístico	0,06-0,14	...	3,10
Palmitico	35,44-41,35	25,30	28,20
Estearico	7,53-10,60	13,10	12,70
Oléico	8,07- 9,58	17,20	17,30
Linoléico	36,64-43,08	39,00	35,80
C <sub>20</sub> e outros	4,28- 6,43	5,20	2,90

Quadro 2.

Amostra	Ác.graxos livres %	Índice de iôdo (Weys)	Ponto de fusão °C
Nº 1 Neutralizada	0,8	101,1	8,5-9
Nº 1 Ácidos graxos	-	89,3	41-42
Nº 1 Reesterificada <sup>a</sup>	1,1	83,2	36,2
Nº 1 Transesterificada com SnCl <sub>2</sub>	-	-	7-8
Nº 1 Transesterificada com NaOMe	-	-	7-8
Nº 2 Original	11,3	101,8	8-9
Nº 2 Ácidos graxos	-	87,2	40-41
Nº 2 Reesterificada <sup>b</sup>	1,0	81,9	36,8
Nº 3 Original	9,8	100,8	7-8
Nº 3 Ácidos graxos	-	87,6	40-41
Nº 3 Reesterificada <sup>b</sup>	0,9	81,7	35,4

<sup>a</sup> catalizador de reesterificação: cloreto de estanho.

<sup>b</sup> catalizador de reesterificação: ácido tolueno-para-sulfônico.



Quadro 3. Teor de ácidos graxos livres, matéria insaponificável e óleo neutro com óleos de café.

Amostra	Ác.graxos livres %	Matéria in- saponificá- vel %	Óleo neutro %	
			Método de Wesson	Método cro- matográfico
Nº 1	13,3	10,9	77,8	82,8
Nº 2	11,3	9,4	84,5	87,7
Nº 3	9,8	7,9	86,9	88,8
Nº 4	2,6	9,6	93,8	94,3
Nº 5	18,6	10,8	68,3	75,9

#### LITERATURA

1. BAUR, F. J. & LUTTON, E. S. Salad oils. Prenter & Gamble. U.S. 3.158.489, nov. 24. 1964. U.S. 3.158.490, nov. 24, 1964.
2. DJERASSI, C., CAIS, M. & MITSCHER, L.A. Structure of the pentacyclic diterpene cafestol. J. Am. Chem. Soc. 81: 2.386-98, 1959.
3. ECKEY, E. W. In Vegetables Fats and Oils. Reinhold Publ. Co., New York, U.S.A., 1st ed., p. 760, 1964.
4. GALANOS, D.S. & KAPOULAS, V.M.J. Isolation of polar lipids from triglyceride mixtures. Lipid Res. 3: 134-136, 1962.

5. HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. A modification of the Wesson Method for the determination of the Refining Loss in oils and fats. Laboratory Practice 17 (2): 209-210, 1968.
6. JAMIESON, G.S. In Vegetable fats and oils. Reinhold Publ. Co., New York, U.S.A., 2 ed., p. 454, 1963.
7. KAUFMANN, H.P. & HAMSAGAR, R.S. Component lipids of the coffee bean. I. Fatty acids esters of cafestol. Fette, Seifen Anstrichmittel, 64: 206-213, 1962.
8. \_\_\_\_\_ & SEN GUPTA, A.K. Zur Kenntniss der Lipide der Kaffeebohne III: Die Reindarstellung des Kahweols. Fette, Seifen Anstrichmittel 65, (7): 529-532, 1963.
9. KHAN, N.A. & BROWN, J.B. The composition of coffee oil and its component fatty acids. J. Am. Oil Chemists Soc., 30: 606-609, 1953.
10. LEWKOWITSCH, J. In Chemical Technology and Analysis of oils, fats and waxes. McMillan and Co. Ltd., London, vol. 2, 6 th. ed., pg. 382, 1922.
11. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society, 3 rd ed., vol. 1 American Oil Chemists' Society, Chicago, 1965; a) Ca 5a-40; b) Ca 6b-53; c) Cd 1-25; d) Cd 4-40.
12. \_\_\_\_\_. 3rd ed., Vol. 1, American Oil Chemists' Society, Chicago, 1965, Ca 9f-57.





## O EMPRÊGO DE CULTURAS PURAS NO PROCESSAMENTO DE PICLES DE PEPINO

Mauro Faber de Freitas Leitão  
Tobias José Barretto de Menezes  
Fumio Yokoya

### RESUMO

A fermentação láctica foi conduzida em frascos com pepinos e salmoura, submetidos à prévia pasteurização e à inoculação de culturas de *Lactobacillus plantarum* e *Leuconostoc mesenteroides*. Para fins comparativos, foram incluídos tratamentos com fermentação natural, bem como com inoculação de *L. plantarum* em frascos não pasteurizados.

Não foram observadas diferenças sensíveis entre os tratamentos, no que concerne à duração da fermentação e ao teor de acidez final, exceto no caso da inoculação com *L. mesenteroides*, que resultou numa acidez final muito baixa.

Em relação à microflora presente na fermentação natural, constatou-se, no início, a predominância de *Aerobacter aerogenes*, mas, com o aumento da acidez, *L. plantarum* passou a predominar gradativamente.

Verificou-se que a inoculação com cultura pura de *L. plantarum* não foi interessante na redução do tempo de fermentação. Seu emprêgo poderá ser recomendado apenas nos casos em que a microflora da matéria-prima seja muito pobre em bactérias lácticas ou quando há excessiva contaminação com microrganismos indesejáveis.



## SUMMARY

THE USE OF PURE CULTURES IN CUCUMBER IN PICKLES PROCESSING. Lactic acid fermentation in pasteurized brined cucumbers was carried out by the inoculation of pure culture of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides*. The fermentation was compared with natural fermentation, as well as with that of unpasteurized cucumbers with the inoculation of *L. plantarum*.

No visible difference was observed among the treatments concerning the length of time of fermentation and the final acidity, excepting for *L. mesenteroides* that showed a reduced acidity at the end of fermentation. *Aerobacter aerogenes* was the predominant bacterium in the first stage of the natural fermentation, but gradually *L. plantarum* became predominant when the acidity increased.

The results suggested that the inoculation with pure cultures of *L. plantarum* was not effective in reducing the fermentation time, as well as for increasing the final acidity. Therefore, it should be recommended only when the raw material is excessively contaminated or when lactic acid bacteria are present in low numbers.

## INTRODUÇÃO

A fermentação láctica de vegetais visando a obtenção de produtos, tais como pickles e chucrute, tem sido intensivamente estudada nos últimos anos.

As condições necessárias para uma fermentação controlada e eficiente, que resulte na obtenção de um produto de boa qualidade, são conhecidas sob muitos aspectos. Contudo, poucos são os trabalhos relacionados à produção de pickles pelo emprêgo de culturas puras, o que seria vantajoso pela redução do tempo de

fermentação e a diminuição das perdas por atividade de microrganismos indesejáveis. A microflora atuante no processo de fermentação natural, é constituída de bactérias da família *Lactobacillaceae*, particularmente *Lactobacillus plantarum* e *Leuconostoc mesenteroides*, sendo que a primeira é a principal responsável pela formação de ácido láctico.

Nesse processo, atuam, numa primeira fase, bactérias coliformes, representantes do gênero *Racillus*, com pequeno aumento na acidez; numa fase intermediária, as bactérias lácticas são mais atuantes, sendo que *L. mesenteroides* e *L. plantarum* se destacam entre elas; na fase final, quando a acidez é bastante elevada, a microflora predominante é constituída de *L. plantarum* e *L. brevis* (8).

A presença de outras bactérias lácticas nos pepinos em fermentação é comum. PEDERSON & WARD (6), isolaram *Pediococcus cerevisiae* e *Streptococcus faecalis*, porém nunca em níveis de acidez alta.

COSTILLOW, citado por BINSTED e colaboradores (1), conseguiu isolar e identificar bactérias nos pepinos em fermentação, as quais mostravam a seguinte distribuição, em porcentagem: 39,2 de *L. plantarum*; 35,5 de *P. cerevisiae*; 22,2 de *L. brevis* e 5,1 de outras bactérias.

PEDERSON & ALBURY (5) estudaram o emprêgo de culturas puras na fermentação láctica. Operando com culturas isoladas de pepinos em fermentação, inocularam-nas em tonéis com material a fermentar. A inoculação de *L. plantarum* resultou numa predominância absoluta dessa bactéria em todo o transcurso da fermentação, o mesmo não ocorrendo com *L. mesenteroides*, *L. brevis* e outras bactérias, que predominaram apenas durante certa fase, sendo a seguir sobrepujadas por *L. plantarum*.

O presente trabalho, realizado sob condições de laboratório, teve por objetivo verificar o compor-



tamento de *L. mesenteroides* e *L. plantarum* na fermentação, desenvolvendo-se em meio previamente pasteurizado e, portanto, sem a interferência de outras bactérias no processo fermentativo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas variedades de pepinos para mesa, medindo cerca de 20 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro. Inicialmente, o material foi submetido a uma seleção que visava eliminar os pepinos defeituosos. Em seguida, os frutos aproveitáveis foram cortados em fatias longitudinais.

Os ensaios foram conduzidos em frascos Erlenmeyer de 4 litros, colocando-se 1,5 kg de pepinos por frasco e recobríndos com uma salmoura a 7,5%, enriquecida com 15 g/l de glicose e 1g/l de extrato de levedura, no primeiro ensaio, e sem extrato de levedura, no segundo. A proporção entre salmoura e pepino foi padronizada em 1,5:1.

O primeiro ensaio consistiu dos seguintes tratamentos, com três repetições:

- 1A - Fermentação natural
- 2B - Fermentação com cultura pura de  
*Leuconostoc mesenteroides*
- 1C - Fermentação com cultura pura de  
*Lactobacillus plantarum*
- 1D - Fermentação com inoculação inicial de  
*L. mesenteroides* e, posteriormente,  
de *L. plantarum*.

No tratamento D, por ocasião da segunda inoculação, a salmoura foi enriquecida com mais 1,0% de glicose.

O segundo ensaio compreendeu os três tratamentos seguintes, com duas repetições:

2A - Fermentação natural

2B - Fermentação com cultura pura de  
*L. plantarum*

2C - Fermentação natural com inoculação de  
*L. plantarum*

Nos tratamentos B, C e D, com cultura pura, do primeiro ensaio, como no tratamento B, do segundo ensaio, a pasteurização foi efetuada à temperatura de 100°C, durante 10 minutos, seguindo-se de imediato resfriamento e inoculação com as bactérias lácticas.

O inóculo foi preparado, adaptando-se a cultura em estoque no meio de suco de pepino enriquecido com 10 g/l de glicose e 1 g/l de extrato de levedura, empregando-se 5 ml/l de cultura bem desenvolvida como inóculo.

Em amostras coletadas diariamente, foram feitas as determinações de pH e acidez total, expressando-se esta em porcentagem de ácido láctico. Determinou-se, ainda, a concentração salina no final da fermentação.

Procedeu-se à contagem e identificação de bactérias (2, 7) nas diversas fases da fermentação do tratamento A, do primeiro ensaio, com a finalidade de se conhecer a microflora atuante nos diferentes níveis de pH e acidez.

Nos tratamentos com fermentação natural, com ou sem inoculação, utilizou-se ácido sórbico a 0,05% para o controle de fungos e leveduras.

Em ambos os ensaios, a fermentação foi interrompida 13 dias após a inoculação.



## RESULTADOS

Nos tratamentos 1 C e 2 B, do primeiro e segundo ensaios, com inoculações de *Lactobacillus plantarum*, a acidez total atingiu, no final do 13º dia, 0,45 e 0,48% de ácido láctico, respectivamente.

No tratamento com inoculações de *Leuconostoc mesenteroides*, a acidez final atingida foi de 0,18%. A inoculação de *L. plantarum*, após *L. mesenteroides*, resultou num rápido aumento na produção de ácido, que atingiu 0,49% no final de 13 dias. Valores semelhantes de acidez foram obtidos com a fermentação natural, em ambos os ensaios, sendo o maior no primeiro ensaio (1A), com 0,59%. A adição do extrato de levedura não resultou em aumento da produção de ácido, como se pode observar nos tratamentos do primeiro ensaio, com adição de extrato de levedura e, no segundo, sem esta adição.

Os resultados relacionando o desenvolvimento do processo fermentativo com a microflora, estão registrados no quadro 1; os referentes à produção de ácido e à redução de pH, encontram-se indicados nos gráficos 1 a 4.

A microflora presente no início da fermentação era constituída de uma população numerosa de coliformes, que atingia o total de  $4,7 \times 10^7$  microrganismos por ml, com uma acidez de 0,168%. Observou-se, à medida que aumentava a acidez, uma redução no número total de microrganismos, com predominância de *L. plantarum*, conforme mostra o quadro 1.

QUADRO 1. Variações na acidez total, pH, microflora e espécies predominantes, de acordo com o tempo de fermentação. (Ensaio de fermentação natural 1A).

Nº de dias de fermentação	pH	Acidez total % de ácido láctico	Nº médio de microrganismos (x 10 <sup>4</sup> /ml de salmoura)	Espécie predominante
2	4,34	0,168	4,700	<i>Aerobacter aerogenes</i>
5	3,53	0,429	2,780	<i>Lactobacillus plantarum</i>
7	3,43	0,510	384	<i>L. plantarum</i>
8	3,40	0,576	120	<i>L. plantarum</i>
9	3,36	0,579	107	<i>L. plantarum</i>
12	3,36	0,597	9,6	<i>L. plantarum</i>



## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Não houve diferenças entre os tratamentos com inoculações de culturas puras de *Lactobacillus plantarum* e os com fermentação natural, quanto ao aumento na produção de ácido e à redução do tempo de fermentação. No entanto, ambos os tratamentos foram superiores àqueles em que foi inoculado *L. mesenteroides*. Possivelmente, a microflora natural de bactérias lácticas na matéria-prima era suficiente para se desenvolver e predominar na população, resultando na produção desejável de ácido.

Êsses resultados vêm mostrar que as inoculações com cultura pura não são interessantes, podendo o seu emprêgo ser preconizado, entretanto, quando a matéria-prima é pobre em bactérias lácticas, ou quando o número de microrganismos prejudiciais é bastante elevado.

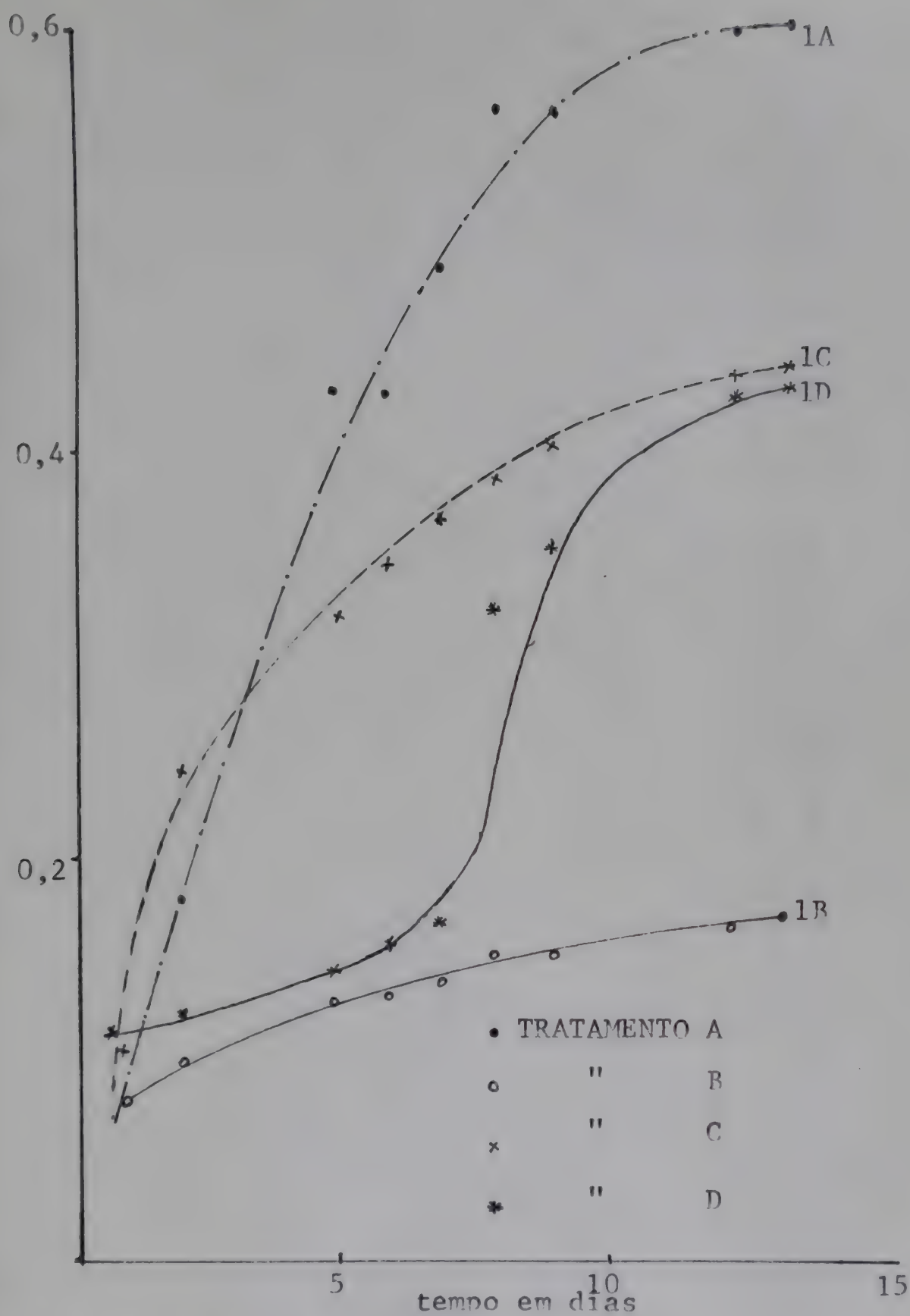


Fig. 1. Variação dos teores de acidez (expresso em porcentagem de ácido lático) nos diferentes tratamentos em função do tempo de fermentação - Ensaio 1.



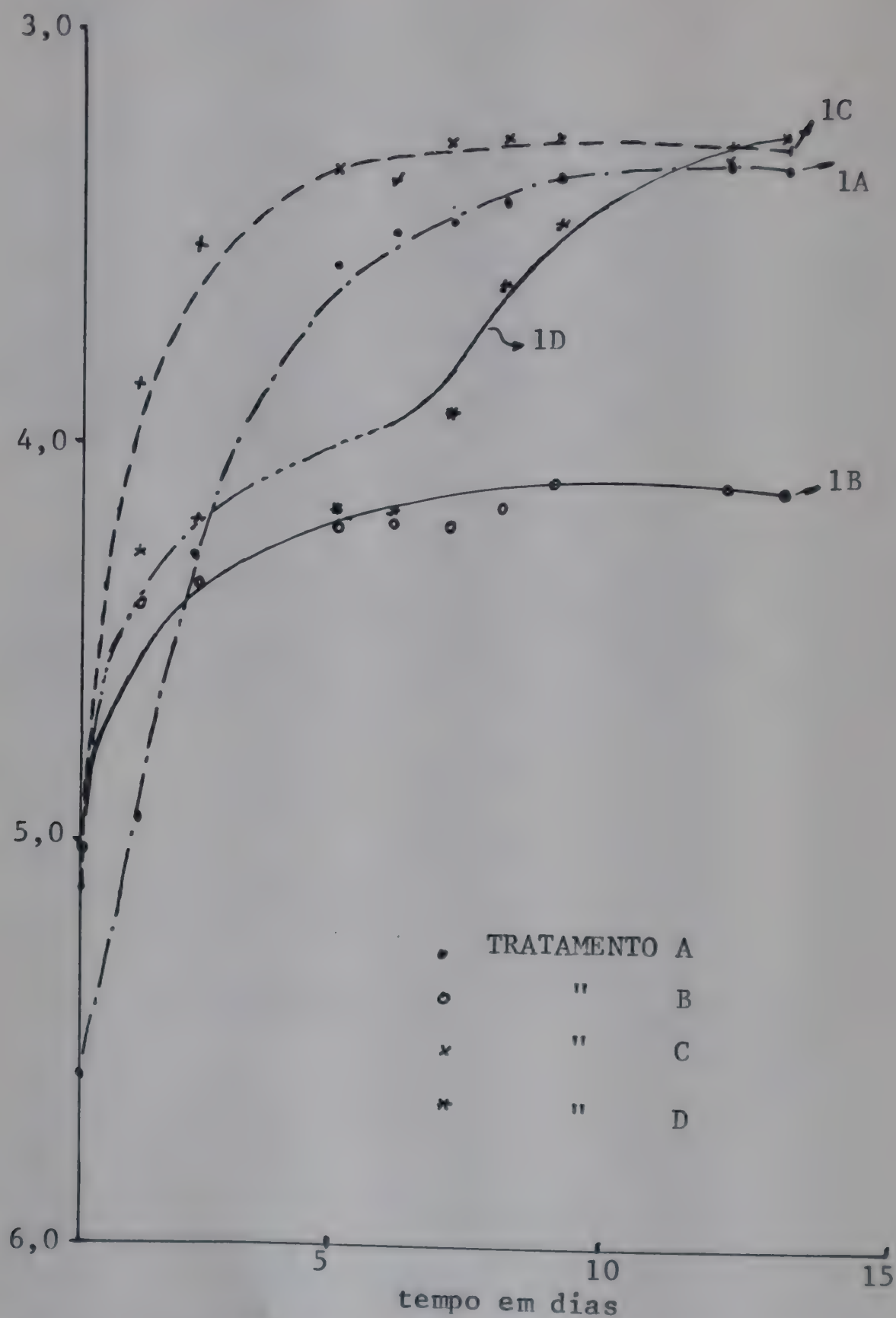


Fig. 2. Variação do pH nos diferentes tratamentos em função do tempo de fermentação - Ensaio 1.

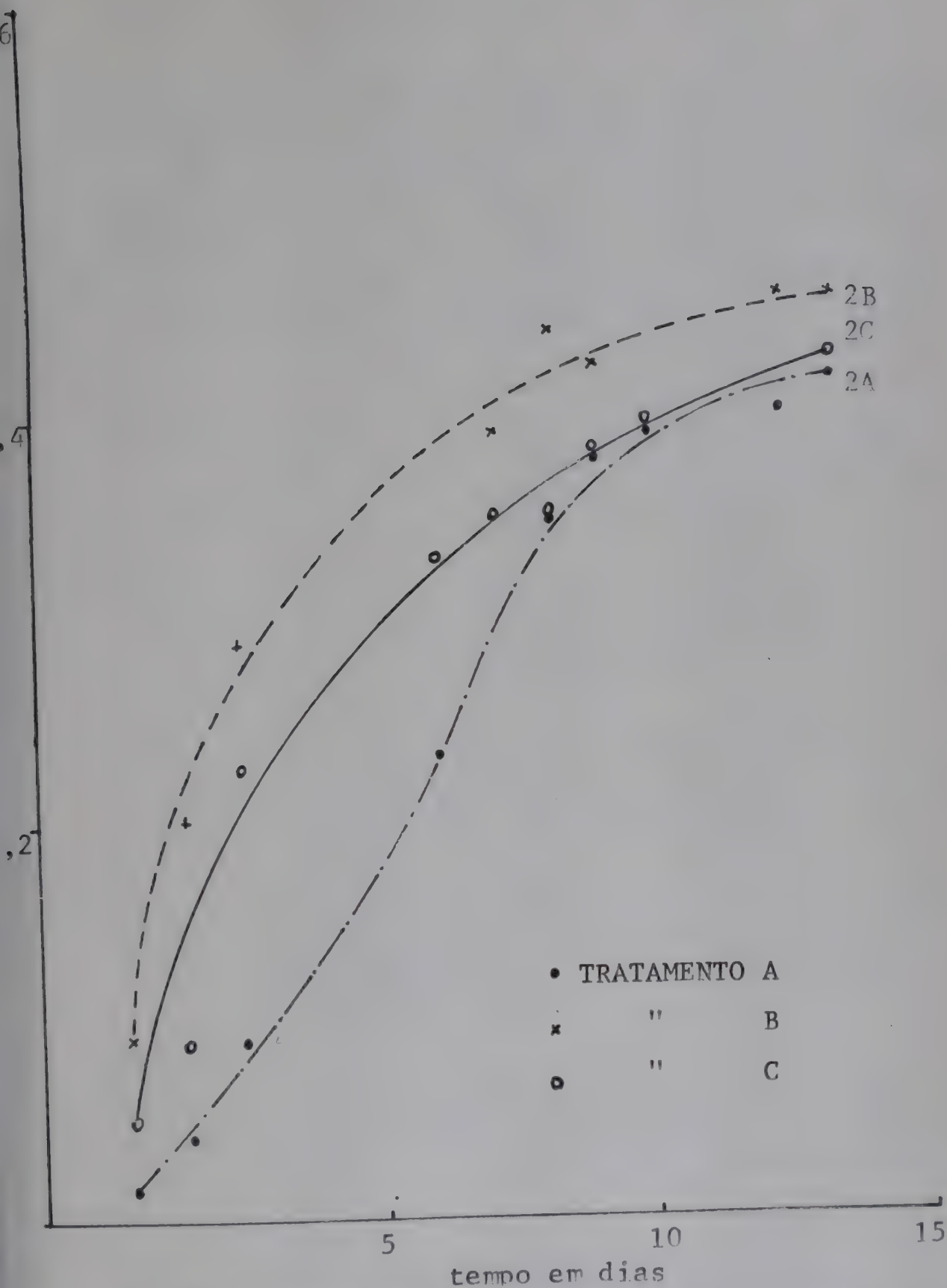


Fig. 3. Variações dos teores de acidez (expresso em porcentagem de ácido lático) nos diferentes tratamentos em função do tempo de fermentação - Ensaio 2.



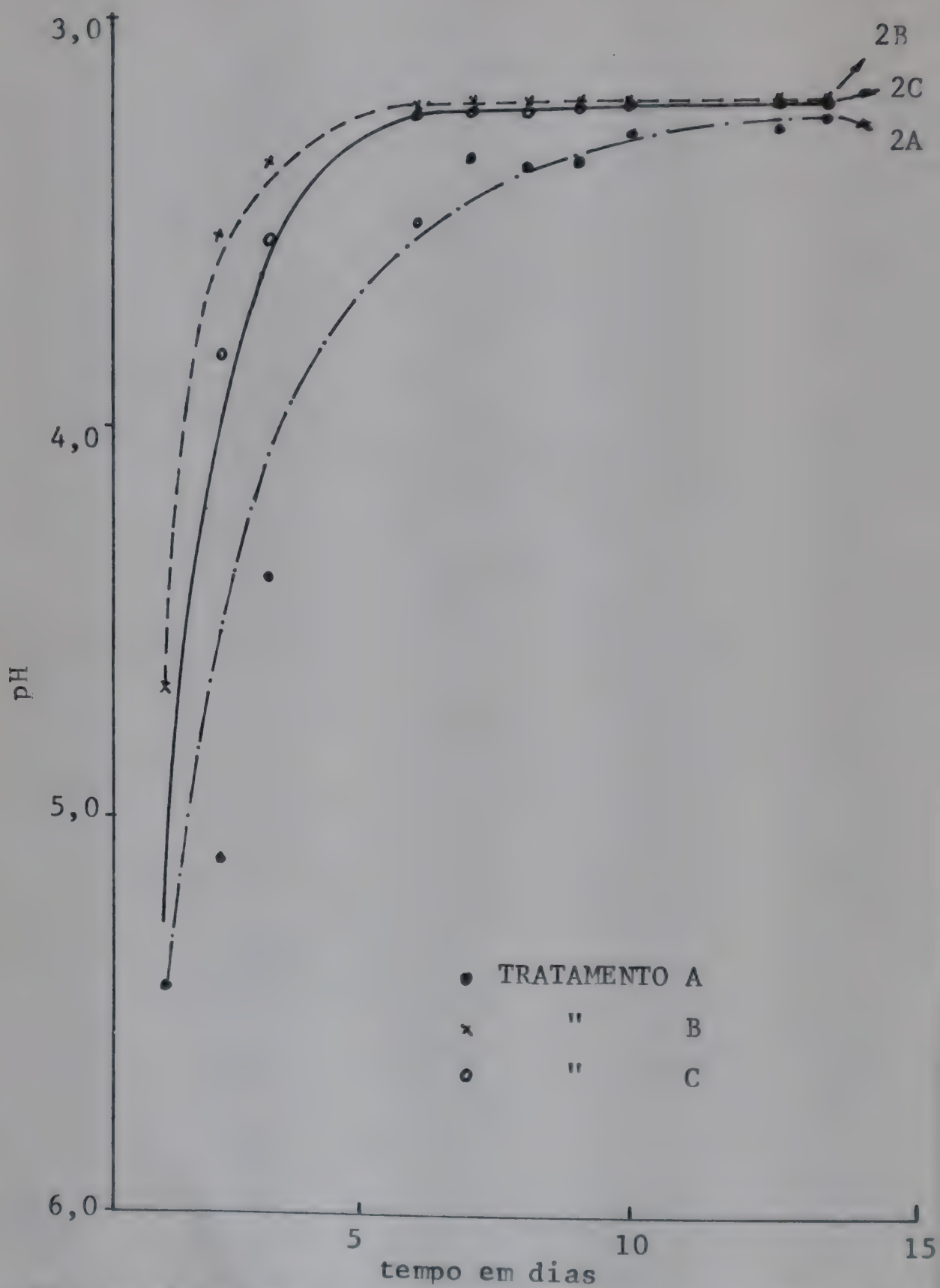


Fig. 4. Variações do pH nos diferentes tratamentos em função do tempo de fermentação - Ensaio 2.

## LITERATURA

1. BINSTED, R.; DEVEY, J.D. & DAKIN, L.C. Pickle and sauce making. Food Trade Press Ltd., London, 274 p., 1962.
2. BREED, R.S.; MURRAY, E.G.D. & SMITH, N.R. Bergey's Manual of determinative bacteriology. The Williams and Wilkins, Baltimore, U.S.A., 7th ed., 1094 p., 1957.
3. ETCHELLS, J.L.; BORG, A.F. & BELL, T.A. Influence of sorbic acid on populations and species of yeasts occurring in cucumber fermentations. Appl. Microbiol. 2: 139-144, 1961.
4. MENEZES, T.J.B.; LEITÃO, M.F. & MENDONÇA, N.T. Ensaio preliminar para a fabricação de picles de pepino por fermentação láctica. Revista de Olericultura. 6: 9-17, 1966.
5. PEDERSON, C.S. & ALBURY, M.N. The effect of pure culture inoculation on fermentation of cucumbers. Food Technol. 15: 351-354, 1961.
6. \_\_\_\_\_. & WARD, L. The effect of salt upon the bacteriological and chemical changes in fermenting cucumbers. New York Agricultural Experiment Station, New York, 29 p., 1949 (Tech. bull. n° 288).
7. SHARF, J.M. Recommended methods for the microbiological examination of foods. Am. Publ. Health Assn., Inc., New York, U.S.A., 2nd ed., .... p., 1966.
8. UNDERKOFER, L.A. & HICKEY, R.J. Industrial fermentations. Chemical Co. Ind. New York, U.S.A. vol. 2, 578 p., 1954.





## ESTUDO COMPARATIVO DO EXTRATO DE TOMATE ENLATADO

Mauro Faber F. Leitão  
Tobias J.B. de Menezes

## RESUMO

Seis marcas comerciais de extrato de tomate enlatado foram examinadas do ponto-de-vista microbiológico. Foram isoladas e identificadas bactérias mesófilas do gênero *Bacillus* sp., em três marcas, e uma levedura, *Torulopsis candida*, em uma amostra, indicando possível contaminação pela água de resfriamento.

Os resultados mostram que os produtos examinados estão de acordo com a Legislação Paulista vigente, quanto à contagem de fungos pelo método de Howard, e que a presença de *Bacillus* sp. não constitui motivo para a rejeição do produto.

## SUMMARY

COMPARATIVES STUDY OF CANNES TOMATO PASTE. Six commercial brands of canned tomato paste were examined in relation to its microbiological conditions. The results showed that some samples contained mesophilic bacilli. The mold count by Howard's method was bellow the limit established by brazilian's standards. The sporeformes found in three brands are not objectionable for the consumption since they are unable to develop in the product.



## INTRODUÇÃO

A necessidade de um melhor conhecimento das diversas marcas comerciais de um produto alimentício é de grande importância, como primeira medida, a um estudo sobre o aprimoramento técnico do seu processamento, principalmente quando se trata de uma indústria em início de desenvolvimento.

Em nosso meio, a ampla aceitação no mercado consumidor de certos produtos enlatados, já bastante familiares, como o palmito, a ervilha e o extrato de tomate, faz com que os fabricantes intensifiquem a produção sem o necessário cuidado quanto à melhoria da qualidade.

Entre os exames que são feitos para controle desses produtos, o microbiológico constitui excelente medida para a avaliação das suas qualidades sanitárias, visto que a presença de determinado tipo de microflora, caracterizada pelo seu "habitat", temperatura ótima de desenvolvimento e exigência do oxigênio, revela possíveis falhas ocorridas durante o processamento. Aliadas a esse exame, as determinações de ordem geral, como pH, acidez total, Brix etc., possibilitam um julgamento quanto à sanidade, uniformidade e qualidade do produto final.

Estudos anteriores sobre a conserva de palmito de várias marcas encontradas no mercado paulista, mostraram que há falta de uniformidade no processamento, além da presença de *Bacillus* sp. no produto (6).

Para a conserva da ervilha, foi observada a mesma falta de uniformidade, além da presença de *Micrococcus* sp., demonstrando, assim, a necessidade desses produtos ser melhorados através de técnicas aprimoradas de processamento (5).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Seis marcas de extrato de tomate, embaladas em latas de 450 a 500 gramas de peso bruto, com seis repetições para cada marca, foram tomadas ao acaso em diversos armazéns e supermercados da cidade de Campinas.

De cada marca, três amostras foram utilizadas para os exames microbiológicos, e as outras três para a medição do vácuo das latas. O conteúdo das seis latas foi submetido às determinações de pH, acidez total (expressa em ácido cítrico) e Brix, além da verificação do seu peso líquido. Foram feitas observações quanto ao aspecto geral do produto e estado interno das latas.

Os exames microbiológicos foram efetuados segundo as normas preconizadas para produtos ácidos, descritas no "Recommended methods for the microbiological examination of foods" (7).

Procedeu-se, também, à contagem de hifas de fungos, pelo método de HOWARD (9).

A identificação das bactérias isoladas, com base nas características culturais, morfológicas e fisiológicas, foi realizada de acordo com o "Bergey's manual of determinative bacteriology" (2), ao passo que as leveduras foram classificadas segundo LODDER e colaboradores (3).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para efeito de apresentação dos resultados, as seis marcas de extrato de tomate estudadas foram designadas pelos grupos de letras PA, PB, PC, PD, PE, e PF.



Os resultados dos exames procedidos nas seis amostras correspondentes a cada marca comercial estudada, acham-se inseridos nos quadros 1 a 6, com as respectivas médias.

Em relação às determinações de acidez total e pH, os resultados mostram que, de um modo geral, as latas não apresentaram variações discrepantes, o que se deve ao fato de o tomate ser um vegetal naturalmente ácido, não sendo feitas correções de acidez.

Nas diferentes marcas examinadas, as variações de pH foram de 3,6 a 4,0 e as de acidez total de 1,0 a 1,8.

De maneira geral, as latas apresentaram um vácuo normal, embora nem sempre uniforme dentro da mesma marca. Contudo, as marcas PC e PF não continham vácuo em todas as amostras examinadas.

Com exceção da marca PC, quase todas as latas exibiram sinais de corrosão interna, em maior ou menor grau. As amostras da marca PB mostraram deslocamento da camada de verniz. Observou-se que na marca PE foram utilizadas latas sem a camada de verniz, as quais mostravam, por esse motivo, forte grau de corrosão.

Provavelmente, a qualidade do verniz empregado não seja apropriada para resistir à alta acidez do produto acondicionado, ou então, que defeitos de fabricação das latas, resultando na formação de pequenas ranhuras, sejam a causa do aparecimento do pequeno grau de corrosão observado.

Em relação aos exames microbiológicos, a maioria dos produtos examinados revelou resultados satisfatórios quanto à contagem de campos positivos pelo método de Howard. Foram observadas variações de 20 a 50 nas contagens, sendo que as amostras da marca PB apresentaram os valores mais altos, com média acima de 50%. O valor mais baixo encontrado foi de 20% e correspondeu a uma amostra da marca PE. Para as demais

marcas estudadas, apenas uma amostra, correspondente à marca PC, atingiu limite superior a 50%.

Os resultados das determinações de viabilidade dos microrganismos, feitas em meio aeróbico de "Orange Serum Broth" e em meio anaeróbico de "Orange Serum Agar", à temperatura de 32°C e por 72 horas, estão contidos no Quadro 7.

Verifica-se, por êsse quadro, que apenas as latas das marcas PB, PC e PE apresentaram crescimento em meio aeróbico de "Orange Serum Broth".

As espécies identificadas pertenciam ao gênero *Bacillus*, com bastonetes esporulados, aeróbios e mesófilos. Uma espécie de levedura, *Torulopsis candida*, não resistente ao calor, foi isolada de uma lata da marca PB. Das latas que apresentaram crescimento, foram isoladas ao todo 16 culturas, cuja distribuição pelas diversas marcas examinadas consta do Quadro 8.

No Quadro 9, estão registradas as espécies identificadas e as características dos microrganismos isolados nas diversas marcas de extrato estudadas.

## DISCUSSÃO

Os exames levados a efeito, tais como análises de ordem geral, testes microbiológicos e avaliações pelo método de Howard, revelaram que o processamento empregado e a qualidade do produto deixam a desejar sob certos aspectos.

Os defeitos observados foram de vácuo nulo em duas marcas, corrosão interna das latas e mau aspecto do produto.

Em relação à qualidade do produto do ponto-de-vista microbiológico, verificou-se que em nenhum caso foi ultrapassado o limite máximo estabelecido pela



Legislação Paulista, que é de 65% de campos positivos pelo método de Howard. Contudo, confrontando os valores encontrados com os limites de tolerância de 40 e 50% de campos positivos, estipulados pelas legislações norte-americana e canadense, respectivamente, verifica-se que algumas das marcas estudadas não se encontram em condições de ser comercializadas nos referidos países.

O desenvolvimento de bactérias mesófilas do gênero *Bacillus*, em meio aeróbico de "Orange Serum Broth" a 30°C, não constitui evidência de subprocessamento, uma vez que o tratamento químico empregado no processamento de extrato de tomate não é suficiente para a completa destruição de esporos; no entanto, o desenvolvimento de esporulados é impedido não só pela acidez elevada, como pela concentração elevada do produto. Não se desenvolvem em extrato de tomate ou concentrados de frutas com teor de sólidos solúveis superior a 18% (1).

Por outro lado, ficou demonstrada, pelo isolamento de uma levedura, a ocorrência de vazamento em uma das latas por ocasião do resfriamento.

Quadro 1. Resultados dos exames procedidos em seis latas de extrato de tomate da marca PA.

Lata nº	Vácuo de Hg	pH	Acidez (g de ácido cítri- co p/100 g)	Brix	Peso líq. (g)		Porc. de campos positivos (Howard)	Aparência do produ- to e estado inter- no das latas
					Regis- trado	Obser- vado		
1	8,0	4,0	1,36	33,6	430	400	32	Material com aspec- to normal, colora- ção vermelha viva, início de corrosão.
2	7,5	4,0	1,29	33,8	430	398	48	Idem
3	8,0	4,0	1,38	34,6	430	400	46	Idem
4	-	4,0	1,39	34,0	430	401	42	Idem
5	-	4,0	1,38	33,2	430	400	40	Idem
6	-	4,0	1,38	34,0	430	401	34	Idem
Val. méd.	7,8	4,0	1,36	33,8	430	400	40	



Quadro 2. Resultados dos exames procedidos em seis latas de extrato de tomate da marca PB.

Lata Nº	Vácuo de Hg	pH	Acidez (g de ácido cítri- co p/100 g)	Brix	Peso líq. (g)		Porc. de campos positivos (Howard)	Aparência do pro- duto e estado in- terno das latas
					Regis- trado	Obser- vado		
1	7,5	3,8	1,43	35,4	390	402	58	Coloração verme- lha-castanha, si- nais de corrosão c/desloc. verniz.
2	5,0	3,8	1,52	35,3	390	406	52	Idem
3	7,5	3,8	1,49	36,6	390	407	52	Idem
4	-	3,8	1,51	34,4	390	404	48	Idem
5	-	3,8	1,44	36,2	390	403	52	Idem
6	-	3,8	1,20	34,6	390	409	52	Idem
Val. mé- dios	6,6	3,8	1,43	35,4	390	405	52	

Quadro 3. Resultados dos exames procedidos em seis latas de extrato de tomate da marca PC.

Lata nº	Vácuo de Hg	pH	Acidez (g de ácido cítri- co p/100 g)	Brix	Pêso líq. (g)		Porc. de campos positivos (Howard)	Aparência do pro- duto e estado in- terno das latas
					Regis- trado	Obser- vado		
1	0	4,0	1,23	36,5	415	424	54	Bom aspecto, colo- ração vermelha-cla- ra, latas sem evi- dência de corrosão
2	0	4,0	1,16	37,0	415	414	50	Idem
3	0	4,0	1,18	36,3	415	419	42	Idem
4	-	4,0	1,11	36,0	415	416	48	Idem
5	-	4,0	1,05	39,0	415	423	50	Idem
6	-	4,0	1,11	36,0	415	415	40	Idem
Val. mé- dios aproxim.	0	4,0	1,14	36,8	415	418	47	



Quadro 4. Resultados dos exames procedidos em seis latas de extrato de tomate da marca PD.

Lata nº	Vácuo de Hg	pH	Acidez (g de ácido cítrico p/100 g)	Brix	Peso líq. (g)		Porc. de campos positivos (Howard)	Aparência do produto e estado interno das latas
					Registrado	Observado		
1	4,0	3,8	1,38	39,0	390	404	24	Produto de coloração vermelha-viva, lata com sinais evid. de corrosão
2	8,0	3,9	1,35	41,5	390	402	40	Produto de coloração vermelha não muito intensa, sem brilho
3	12,0	3,8	1,37	41,5	390	397	28	Idem ao nº 1
4	-	3,8	1,41	42,3	390	412	48	Idem ao nº 1
5	-	3,9	1,49	39,5	390	407	40	Idem ao nº 1
6	-	3,8	1,39	38,7	390	390	28	Idem ao nº 1
Val. médios aproxim.	8,0	3,8	1,39	40,4	390	402	34	

Quadro 5. Resultados dos exames procedidos em seis latas de extrato de tomate da marca PE.

Lata nº	Vácuo de Hg	pH	Acidez (g de ácido cítri- co p/100 g)	Brix	Pêso líq. (g)		Porc. de campos positivos (Howard)	Aparência do pro- duto e estado in- terno das latas
					Regis- trado	Obser- vado		
1	8	3,6	1,08	31,8	420	391	88	Coloração verme- lha-pálida, lata c/o corpo sem ver- niz,c/evid.corro- são.
2	9	3,7	1,06	32,9	420	408	32	Idem
3	7,5	3,7	1,07	32,6	420	407	20	Idem
4	-	3,7	1,10	32,0	420	391	40	Idem
5	-	3,6	1,06	32,3	420	388	44	Idem
6	-	3,7	1,06	29,4	420	389	46	Idem
Val. mé- dios aproxm.	8,2	3,6	1,07	31,8	420	395	36	



Quadro 6. Resultados dos exames procedidos em seis latas de extrato de tomate da marca PF.

Lata n.º	Vácuo de Hg	pH	Acidez (g de ácido cítri- co p/ 100g)	Brix	Pêso líq. (g)		Porc. de campos positivos (Howard)	Aparência do pro- duto e estado in- terno das latas
					Regis- trado	Obser- vado		
1	0	3,9	1,74	41,8	390	386	36	Coloração verme- lha, pouco brilho, com sinais de cor- rosão nas latas.
2	0	3,9	1,70	40,7	390	362	44	Idem
3	0	3,9	1,84	41,4	390	386	38	Idem
4	-	3,9	1,79	40,4	390	383	44	Idem
5	-	3,9	1,77	42,2	390	388	44	Idem
6	-	3,9	1,81	41,1	390	364	50	Idem
Val.mé- dios aproxim.	0	3,9	1,77	41,2	390	378	42	

Quadro 7. Determinação da viabilidade dos microrganismos em meios aeróbico e anaeróbico de três latas de cada marca de extrato de tomate.

"Orange Serum Broth"			"Orange Serum Agar"	
Marca e amostra	Inóculo 1	Inóculo 2	Inóculo 1	Inóculo 2
PA 4	-	-	-	-
PA 5	-	-	-	-
PA 6	-	-	-	-
PB 4	+	+	-	-
PB 5	+	-	-	-
PB 6	+	+	-	-
PC 4	+	+	-	-
PC 5	+	+	-	-
PC 6	+	+	-	-
PD 4	-	-	-	-
PD 5	-	-	-	-
PD 6	-	-	-	-
PE 4	+	-	+	-
PE 5	+	+	+	+
PE 6	+	-	+	-
PF 4	-	-	-	-
PF 5	-	-	-	-
PF 6	-	-	-	-

- = Ausência de crescimento.  
 + = Crescimento constatado.



Quadro 8. Ocorrência de latas apresentando microrganismos viáveis nas diversas marcas de extrato de tomate e número de microrganismos isolados.

Amostra	Latas examinadas	Latas contaminadas	Microrganismos isolados
PA	3	0	-
PB	3	3	5
PC	3	3	6
PD	3	0	-
PE	3	3	5
PF	3	0	-

Quadro 9. Espécies de microrganismos nas diferentes marcas de extrato de tomate.

Amostra	Caract. dos microrganismos isolados	Espécies
PA	-	-
PB	Bactérias em bastonetes, esporuladas e leveduras não esporuladas	<u>Bacillus circulans</u> e <u>Torulopsis candida</u>
PC	Bactérias em bastonetes, esporuladas	<u>Bacillus subtilis</u> e <u>Bacillus sp</u>
PD	-	-
PE	Bactérias em bastonetes, esporuladas	<u>Bacillus subtilis</u>
PF	-	-

## LITERATURA

1. BERGERET, G. Conservas vegetales: frutas y hortalizas. Salvat Editores S.A., Barcelona, Hespanha, 540 p., 1950.
2. BREED, R.S., MURRAY, E.G.D. & SMITH, N.R. Bergey's manual of determinative bacteriology. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, U.S.A., 7 ed., 1094 p., 1957.
3. LODDER, J., RIU, N.J. & KREGER, W. The yeasts: a taxonomic study. North Holland Publishing Co., Amsterdam, Holland, ed., 713 p., 1952.
4. Manual of methods for pure culture study of bacteria. Soc. Am. Bacteriologists, Ann Arbor Mich., U.S.A., 9 ed., 1948.
5. MENEZES, T.J.B. & LEITÃO, M.F.F. Estudo comparativo da ervilha enlatada. Ciência e Cultura 19 (2): 291, 1967.
6. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. Estudo comparativo do palmito enlatado. Ciência e Cultura 19 (2): 292, 1967.
7. SCHARF, J.M. Recommended methods for the microbiological examination of foods. Am. Publ. Health Ass. Inc., New York.
8. TANNER, F.W. The microbiology of foods. Garrard Press, Champaign, Illinois, USA ed. 1196 p. 1944.
9. The Howard mold count method applied to tomato products. Am. Can. Co., Res. Div. Maywood, Illinois, U.S.A., 47 p., 1950.



10. TOWNSEND, C., SOMERS, L. & LAMB, F. A laboratory manual for the canning industry. National Canners Ass., Washington D.C., USA, 2 ed., 1957.
11. United States standards for grades of tomato past. U.S. Dept. Agric., Washington D.C. USA, 4 p., 1964.

## DETERMINAÇÃO DO FATOR ANTITRIPSINA NOS PRODUTOS DERIVADOS DA SOJA

Ruth Musche

Massami Shimokomaki

Mauro Faber Freitas Leitão

### RESUMO

O presente trabalho foi realizado com a finalidade de estudar um método simples para a determinação quantitativa do inibidor de tripsina no leite de soja.

O método baseia-se na ação da tripsina sobre a gelatina. Como fonte de gelatina foi usado filme fotográfico virgem, o qual se torna transparente sob a ação da tripsina.

Foi observada a ação do inibidor pelo aspecto final do filme, incubando-o em misturas de leite e tripsina em concentrações variáveis e conhecidas em um volume final constante, com tempo e temperatura controlados.

O método foi aplicado em leite de soja que sofreu diferentes tratamentos térmicos para a inativação de inibidor, tendo apresentado bons resultados. Estes resultados foram expressos em unidade de antitripsina equivalente a 1  $\mu$ g de tripsina cristalizada, inibida por cc de leite a 25°C durante 30 minutos.

Devido à sua simplicidade e baixo custo, esse método é de fácil aplicação nas indústrias, mesmo quando de pequeno porte, pois não exige aparelhamento especial e nem pessoal de alto nível técnico.

## SUMMARY

DETERMINATION OF ANTITRYPSIN ACTIVITY IN SOYBEAN PRODUCTS. A new method for the determination of antitrypsin activity has been developed. It is based upon the inhibition of trypsin activity on the gelatin of photographic film.

The method can be successfully applied to evaluate the inactivation of antitrypsin factor in soybean milk by heat. Due to the simplicity and low cost, it is recommended for the routine analysis of soybean milk in the industry.

## INTRODUÇÃO

A soja se caracteriza por apresentar um teor elevado de proteínas, aliado a uma composição satisfatória de aminoácidos. Isso faz com que o seu emprego na alimentação seja preconizado no sentido de suprir a carência protéica de grande parte da população.

Vários derivados da soja têm sido elaborados. Entre outros, o mais difundido é o leite, empregado como substitutivo do leite animal, principalmente para crianças alérgicas a este produto.

No entanto, vários fatores limitam o emprego de soja em larga escala, destacando-se, dentre eles, a presença do inibidor de tripsina e de substâncias tóxicas como a hemaglutinina, saponina e outros, que são possivelmente, os responsáveis pelo sabor e aroma característicos, presentes não só na soja crua, como também em seus derivados.

O estudo sobre o inibidor de tripsina é complexo. Sabe-se que é largamente encontrado na natureza (3), tanto em animais como em vegetais. A alfafa, a soja, a clara de ovo, o soro sanguíneo humano e o colostro são alguns exemplos dessas fontes.



Os inibidores dessas várias fontes diferem em suas propriedades físicas e químicas, porém apresentam a propriedade comum de inibir a atividade de tripsina.

De acordo com Circle (1), Kunitz foi o primeiro que conseguiu cristalizar o inibidor a partir da soja. Esse inibidor cristalizado inibia a atividade proteolítica da tripsina, formando um composto estável (1), praticamente livre do inibidor ou de atividade proteolítica, apresentando um peso ao redor da soma das duas substâncias. Kunitz (1) supôs também que essa reação fôsse análoga à da neutralização ácido-base e, pelo que tudo indica, os grupamentos amino livres da tripsina reagiriam com os grupamentos carboxilos livres do inibidor.

Circle (1) menciona Borchers e colaboradores que afirmaram ser a ação do inibidor de tripsina não uma combinação com o substrato, tampouco uma competição com a tripsina pelo mesmo, umas agindo sobre a tripsina ou prevenindo sua combinação com o substrato ou evitando a dissociação do complexo tripsina-substrato formado.

Porém, todas essas substâncias tóxicas, inclusive o inibidor de tripsina, são destruídas pelo tratamento térmico (2).

O presente trabalho teve por objetivo o emprego de um método bastante simples e rápido, capaz de determinar a quantidade do inibidor de tripsina no leite de soja, pela utilização de filmes fotográficos virgens. Na execução do mesmo, foram utilizadas diversas amostras de leite de soja, as quais sofreram diferentes tratamentos térmicos na sua preparação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O leite de soja utilizado nas determinações foi preparado a partir de sementes da variedade Pelicano.

No ensaio 1, as sementes foram tratadas por maceração pelo espaço de 24 horas, para facilitar a remoção manual das cascas; em seguida, procedeu-se à moagem em liquidificador Waring com 1 litro de água. Filtrou-se em pano e o leite assim obtido foi diluído para as análises.

Nos ensaios 2 a 6 houve variações no processamento, tendo o material sido submetido ao tratamento térmico em autoclave à temperatura de 100°C, durante espaços de tempo variáveis, bem como à secagem em estufa também a espaços de tempo e temperaturas variáveis, conforme especificação abaixo:

ENSAIO

TRATAMENTO TÉRMICO

- |   |  |
|---|--|
| 1 | Nenhum.  |
| 2 | Autoclave a 100°C durante 45 minutos.<br>Secagem em estufa a 104°C durante 10 minutos.   |
| 3 | Autoclave a 100°C com grãos imersos em água durante 45 minutos.  |
| 4 | Autoclave a 100°C durante 45 minutos.<br>Secagem em estufa a 104°C durante 10 minutos.   |
| 5 | Autoclave a 100°C durante 45 minutos.<br>Secagem em estufa a 104°C durante 30 minutos. Tratamento com $\text{NaHCO}_3$ durante 15 minutos. Secagem em "spray-dryer". |
| 6 | Autoclave a 100°C durante 50 minutos.<br>Secagem em estufa a 100°C durante 20 minutos. Tratamento com $\text{NaHCO}_3$ a 70°C durante 30 minutos.                    |

O método empregado na avaliação do inibidor de tripsina baseia-se na determinação da atividade proteolítica desse enzima sobre a gelatina. Para isso, foram utilizados pedaços de filmes fotográficos virgens, que são revestidos por uma camada de gelatina.



A tripsina atua sobre essa gelatina digerindo-a, de maneira que o aspecto do filme é modificado, tornando-se transparente. Se a ação da tripsina for inibida não ocorrerá essa digestão da gelatina e o filme permanecerá inalterado em seu aspecto (ausência de transparência).

Em uma série de 6 tubos foram adicionados, em quantidades crescentes, de 1 a 6 cc de uma solução de tripsina de concentração 200 mg/l, assim como 1 cc da amostra de leite do ensaio 1, já diluído a 10%. O volume foi completado para 8,0 cc, em todos os tubos, usando-se tampão 1 N de  $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$ , de  $\text{pH} = 8,3$ .

As amostras foram incubadas a  $25^\circ\text{C}$  durante 10 minutos em banho-maria, após o que os pedaços de filme fotográfico foram colocados nos tubos e ali deixados durante 30 minutos, espaço de tempo suficiente para haver a inibição da tripsina pelo inibidor do leite e da ação da tripsina não inativada sobre a gelatina.

Nas demais amostras foi empregado o mesmo método, sendo que no ensaio 5, fez-se uma solução a 10% e as diluições da solução de tripsina foram feitas a partir de 0,2 cc e até 1,6 cc, objetivando, com isso, determinar com maior precisão, o limite da inibição.

A tripsina empregada provinha do laboratório "Difco". A solução foi preparada 24 horas antes da sua utilização.

## RESULTADOS

No ensaio 1, sem a soja sofrer qualquer tratamento térmico, observou-se completa inibição da tripsina até o terceiro tubo, correspondente à adição de 600 µg de tripsina na mistura; a partir do 4º tubo, o aspecto do pedaço do filme foi alterado, tornando-se transparente, indicando com isso a digestão da camada de gelatina pela tripsina não inibida.



Nos ensaios 2, 3, 4 e 6, com a soja sofrendo diferentes tratamentos térmicos, houve a inibição da tripsina logo no primeiro tubo (200  $\mu$ g) sendo que no segundo tubo (400  $\mu$ g) a gelatina foi digerida.

No ensaio 5, com o leite em pó de soja em solução a 10%, houve a digestão a partir de 240 $\mu$ g de tripsina.

A determinação quantitativa do inibidor de tripsina foi expressa em porcentagem de tripsina inibida. Tomando-se, como exemplo, os ensaios 1 e 5, foram obtidos os seguintes resultados.

Ensaio	Sólidos totais %	Tripsina inibida mg/100mg de sólidos totais
1	7,3	8,22
5	97,8	0,20

Houve, portanto, uma porcentagem de 2,43 de tripsina inibida no leite de soja em pó depois do tratamento térmico.

### CONCLUSÕES

Os ensaios realizados vêm demonstrar a possibilidade do emprego do presente método para avaliação da eficiência dos tratamentos na inativação do inibidor de tripsina.

Os resultados demonstram que o tratamento térmico empregado provocou uma redução de 97,57% da ação inicial do inibidor no leite de soja em pó, o que comprova a sua eficiência.

O método aqui utilizado apresenta, em relação aos comumente empregados, a vantagem da rapidez da determinação aliada à simplicidade e ao baixo custo de execução, possibilitando, conseqüentemente, a sua aplicação nas indústrias de pequeno porte.

## LITERATURA

1. CIRCLE, S.J. Proteins and other nitrogenous constituents. Soybeans and soybean products. Interscience Publishers, Inc., New York, vol.1, 1950.
2. RACKIS, J.J. Soybean - Trypsin inhibitors: their inactivation during meal processing. Food Technology. 21: 102-104, 1966.
3. SMITH, A.K. Theories on improving the nutritional value of soybean meal. In Proceed. Conf. on soybean products for protein in human foods: 101-109, 1961.





## HIDROGENAÇÃO SELETIVA DOS GRUPOS DO ÁCIDO CICLOPROPENO EM ÓLEO DE ALGODÃO (\*)

T.L. Ward  
João Shojiro Tango  
E.R. Cousins  
R.O. Feuge

### RESUMO

*Os grupos do ácido ciclopropeno no óleo de algodão podem ser modificados por uma ligeira hidrogenação, que não produzirá grandes quantidades de isômeros trans, nem abaixará o valor do índice de iodo em extensão significativa. As condições ótimas, conforme indicadas por esta investigação, são 205-215°C, pressão de hidrogênio de 20 psig, 0,1% de níquel electrolítico como catalisador e baixa taxa de dispersão de hidrogênio.*

*Sob condições mais brandas de hidrogenação, a eliminação dos ciclopropenos era acompanhada de formação mais baixa de isômeros trans e de uma hidrogenação mais baixa de não ciclopropenos, porém, o tempo requerido aumentava.*

*Numa hidrogenação levada a efeito com catalisador de níquel comercial, o 0,4% dos grupos do ácido malvático do óleo de algodão foi completamente hidrogenado, enquanto que o valor do índice de iodo era reduzido de apenas 1,7 unidades e somente 2,1% dos isômeros trans eram formados.*

---

(\*) Publicado em "The Journal of the American Oil Chemist's Society" 44(7):420-422, 1968.  
Tradução de J. C. Medina.

A invernaliação dos óleos de algodão que haviam sido hidrogenados ao ponto de se eliminar sua resposta ao teste de Halphen e nos quais apenas pequenas quantidades dos grupos de ácidos saturados e isômeros trans tinham sido formadas, deram rendimentos iguais ou melhores do que aqueles do óleo original. A hidrogenação realmente aumentou a facilidade da invernaliação.

## SUMMARY

SELECTIVE HYDROGENATION OF THE CYCLOPROPENE ACID GROUPS IN COTTONSEED OIL. The cyclopropene acid groups in cottonseed oil can be modified by a light hydrogenation which will not produce large amounts of trans isomers or lower the iodine value to a significant extent. Optimum conditions, as indicated by this investigation, are 105-115°C, 20 psig hydrogen pressure, 0.1% electrolytic nickel as catalyst, and a low hydrogen-dispersion rate.

Under milder conditions of hydrogenation the elimination of the cyclopropenes was accompanied by a lower formation of trans isomers and a lower hydrogenation of noncyclopropenes, but the time required increased.

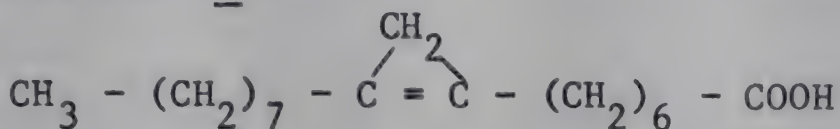
In one hydrogenation carried out with commercial nickel catalyst, the 0.4% of malvalic acid groups in the cottonseed oil was hydrogenated completely whereas the iodine value was reduced by only 1.7 units and only 2.1% of trans isomers was formed.

Winterization of cottonseed oils which had been hydrogenated to the point of eliminating their response to the Halphen test and in which only small amounts of saturated acid groups and trans isomers had been formed gave yields equal to or better than those of the original oil. Hydrogenation actually increased the ease of winterization.



## INTRODUÇÃO

O teste de Halphen (1,2) desde há muito é utilizado como uma indicação qualitativa da presença de óleo de algodão em outros óleos. Há cerca de 10 anos, o grupo ciclopropeno foi demonstrado ser responsável pela cor desenvolvida no teste de Halphen (3). Em 1959, demonstrou-se que o grupo de ácido ciclopropeno ocorre nos ácidos graxos componentes do óleo de algodão como ácido malválico (8),



e, mais recentemente, que o ácido estercúlico, um homólogo C<sub>19</sub> do ácido malválico, também ocorre no óleo de algodão (9).

Foi demonstrado que a hidrogenação do óleo de algodão elimina sua resposta ao teste de Halphen (4,6,7). Também foi demonstrado que a hidrogenação do grupo ciclopropeno para ciclopropano anula a habilidade desse grupo para produzir efeitos indesejáveis nos ovos (5). Entretanto, apenas informação limitada é disponível sobre a quantidade de hidrogenação requerida para destruir a resposta do óleo de algodão, ou outros óleos vegetais, ao teste de Halphen. Lowenstein (4) relatou que um teste negativo foi obtido em óleos de algodão hidrogenados a um valor de índice de iodo de 90-102, sob condições não especificadas. Moore e outros (7), relataram uma experiência, mas falharam em mencionar o valor do índice de iodo do óleo original. Aparentemente, uma queda do valor de índice de iodo de pelo menos 7 unidades e, provavelmente, mais do que 10 unidades, era requerida.

Um objetivo da investigação foi estabelecer as condições que seriam mais seletivas para hidrogenar os grupos do ácido ciclopropeno antes do que outros grupos de ácido insaturado.



Outro objetivo foi determinar se um óleo de algodão, em que os grupos do ácido ciclopropeno tinham sido eliminados por hidrogenação, poderia ser ou não invernalizado para produzir um óleo de salada com rendimento satisfatório.

## EXPERIMENTAÇÃO

### Materiais

O óleo utilizado em toda esta investigação era de algodão, comercialmente refinado e clarificado, com um valor de índice de iodo de 109,1 e teor de ácido malvânico de 0,4%, determinado pelo teste de Halphen e por meio de um colorímetro.

Dois tipos de catalisadores foram empregados: o de níquel, era, em todas as hidrogenações, exceto uma, um produto comercial (da Corporação Chemetron) do tipo de suporte, preparado por precipitação electrolítica e redução a seco; o outro (Baker and Company Inc.), consistia de 10% por peso de paládio sustentado sobre carvão.

Tubo de hidrogênio de um fornecedor comercial foi usado como receptor.

### Aparelho de hidrogenação de aço inoxidável

A maioria das hidrogenações foi conduzida em aparelho de pressão média, de extremidade fechada e 2.000 ml (Parr Instrument Company). O reator era electricamente aquecido e todas as partes em contacto com o óleo eram de aço inoxidável. A efetividade do agitador original, provido com o aparelho, foi aumentada pela adição de uma placa defletora fixa e um par adicional de lâminas agitadoras planas. A quantidade de óleo era tal, que uma porção das lâminas planas se estendia sobre a superfície do óleo. Para a operação, colocavam-se 500 g de óleo de algodão e a quantidade

de catalisador desejada no reator de aço inoxidável. Uma bomba de vácuo ligada a este, mantinha um vácuo sobre o óleo até que a temperatura de operação fôsse atingida, geralmente dentro de cerca de 2 horas. A uma temperatura estacionária, o hidrogênio era rapidamente introduzido e a pressão levada ao nível desejado. Tanto a temperatura como a pressão de hidrogênio eram cuidadosamente mantidas durante toda a operação. Amostras de 50 ml, utilizadas para determinar o ponto em que o teste de Halphen se tornava negativo por exame visual, eram removidas do hidrogenador a intervalos de 5 minutos, sem interrupção da reação de hidrogenação. O valor do índice de iodo e a porcentagem de ligações trans eram determinados na primeira amostra com um teste de Halphen negativo.

A pressão, temperatura e concentração de catalisador eram as principais variáveis nessa fase de investigação. Numa das hidrogenações, paládio-carvão foi utilizado como catalisador. A velocidade de agitação foi mantida constante.

As hidrogenações com 0,1% de níquel como catalisador foram levadas a efeito sob três pressões de hidrogênio; 3, 20 e 40 psig. Para cada pressão, as hidrogenações foram feitas a diferentes temperaturas.

Para mostrar o efeito da variação da concentração do catalisador, as hidrogenações foram realizadas empregando-se 0,05, 0,1 e 0,2% de níquel à temperatura (105°C) e pressão de hidrogênio (20 psig) constantes. Uma hidrogenação comparativa, com 0,008% de paládio como catalisador, foi realizada para mostrar o efeito de um tipo diferente de catalisador.

#### Aparelho de hidrogenação de vidro

Um certo número de hidrogenações foi conduzido num frasco de vidro de 2 litros, de 3 pescoços e de fundo redondo, cujas paredes tinham sido estriadas verticalmente em quatro pontos equidistantes, para minimizar o redemoinho do óleo. Um agitador do tipo pa-



lhêta com lâmina de Teflon era inserido no pescoço central do frasco e ligado, através de um acoplamento magnético à prova de vazamento, ao motor de agitação. Em alguns experimentos, a agitação foi feita por meio de uma barra magnética coberta de Teflon, acionada por um agitador magnético convencional.

Para efetuar a operação, 300 g de óleo eram colocados no frasco, o catalisador era adicionado, o espaço livre do frasco era fluído com hidrogênio, o óleo e o catalisador eram rapidamente aquecidos à temperatura de operação e a agitação iniciada. A pressão de hidrogênio era mantida justamente pouco acima da pressão atmosférica.

Em várias operações usou-se uma mistura de hidrogênio e nitrogênio, em lugar do hidrogênio puro.

O procedimento de invernização foi modelado segundo aquêle usado no processamento industrial do óleo de algodão. A temperatura de cada amostra de óleo foi abaixada lentamente de 29,4 para 12,8°C durante 6 horas, mantendo-se a essa temperatura durante mais 16 horas. O óleo foi então lentamente esfriado para 5,6°C, mantendo-o a essa temperatura durante 16 horas antes da filtração. A filtração por gravidade teve lugar durante um período adicional de 24 horas, sob a mesma temperatura.

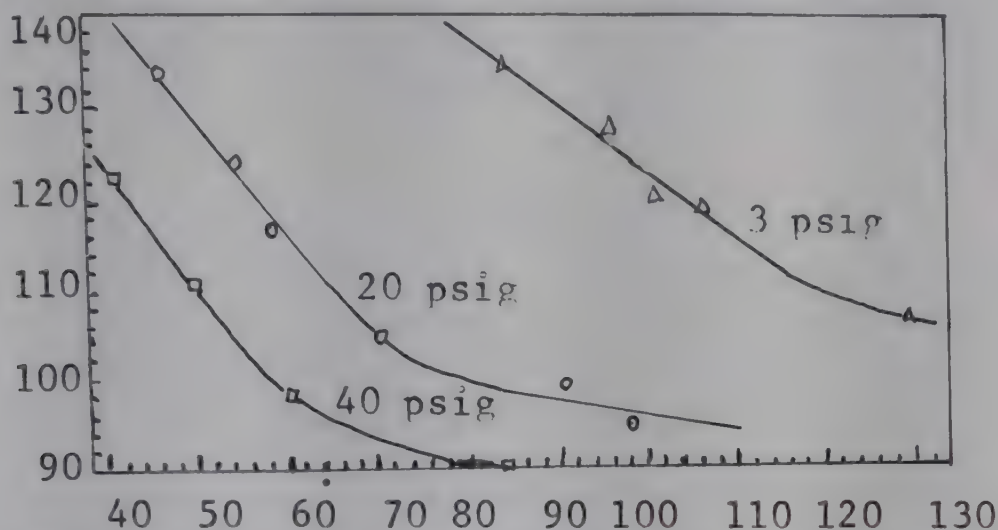
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Hidrogenações em aparelho de aço inoxidável

Para estabelecer o efeito da temperatura e pressão sobre a quantidade de hidrogenação e o tempo requerido para eliminar a resposta Halphen do óleo de algodão, uma série de 15 hidrogenações foi realizada com uma concentração de catalisador de 0,1% de níquel electrolítico e a uma taxa constante de dispersão de hidrogênio (figuras 1 e 2). A porcentagem de isômeros



trans formados foi sempre baixa; a mais baixa foi de 1,3% para a hidrogenação conduzida a 99°C e 20 psig. Como era esperado, a porcentagem de isômeros trans formados foi ligeiramente reduzida por um aumento na pressão. Para uma dada pressão, a porcentagem de isômeros trans aumentava quando a temperatura aumentava e a taxa do aumento acelerava quando a temperatura passava de cerca de 115°C. O maior aumento de isômeros trans encontrado foi de cerca de 3,6%.



tempo de reação para eliminar a resposta de Halphen, em minutos.

Fig. 1. Tempo de reação requerido para eliminar a resposta de Halphen do óleo de algodão por hidrogenação a várias temperaturas e 3 diferentes pressões.

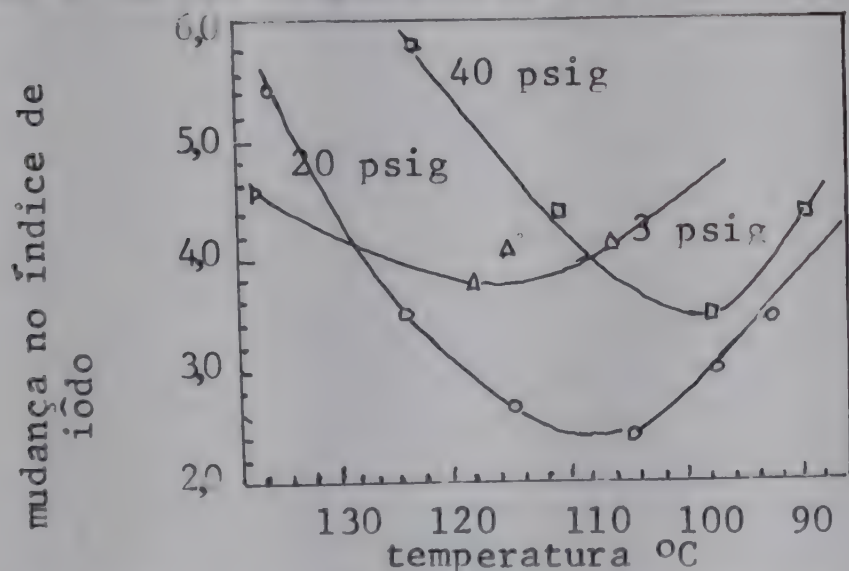


Fig. 2. Redução no índice de iodo durante a hidrogenação do óleo de algodão a várias temperaturas e três diferentes pressões para eliminar a resposta de Halphen.

Como mostrado na fig. 1, a taxa de hidrogenação a uma dada pressão diminuía marcadamente abaixo de uma certa temperatura. Essa tendência seguia o mesmo modelo para cada pressão de hidrogenação. A temperatura em que a taxa começava a mudar (o ponto de quebra da curva) variava inversamente com a pressão. A fig. 1 indica, também, que o efeito de pressão aumentava rapidamente quando a pressão aumentava. A uma temperatura de cerca de 126°C, um aumento na pressão de 3 a 20 psig quase que reduzia à metade o tempo requerido para obter um teste de Halphen negativo; um aumento de 20 a 40 psig reduzia o tempo requerido de apenas cerca de um quarto.

O efeito da temperatura e pressão sobre o grau de hidrogenação requerido é mostrado na fig. 2. Para cada pressão, o mínimo da curva é localizado próximo ou no ponto de deflexão da curva correspondente, mostrada na fig. 1. Isso indica que, para cada pressão, a modificação no valor do índice de iodo pode ser mantida a um mínimo se a temperatura é igual ou ligeiramente acima daquela do ponto de deflexão da curva na figura 1.

O efeito do tipo e concentração do catalisador é ilustrado no quadro 1. A concentração tinha um efeito marcante sobre a duração do tempo requerido para obter um teste de Halphen negativo. Entretanto, tanto a subida como o abaixamento da concentração de 0,1% resultavam em maior redução do valor do índice de iodo. A variação na concentração de catalisador apenas causou uma modificação na formação de isômeros trans no caso da hidrogenação de 20 psig e essa modificação foi relativamente pequena. O mesmo efeito no tempo requerido para um teste de Halphen negativo, causado pela modificação da concentração de catalisador, poderia ser alcançado variando-se a pressão de hidrogenação. A hidrogenação com um catalisador de paládio, mesmo a uma concentração muito baixa do metal, produzia um óleo com um mais baixo valor de índice de iodo e uma porcentagem mais alta de isômeros trans, do que era obtido em qualquer das operações com níquel.



Quadro 1. Efeito do tipo e da concentração do catalisador sobre o tempo requerido para eliminar a resposta Halphen do óleo de algodão\*.

Tipo de catalisador	Conc.do catalisador	Tempo decorrido	Diminuição do valor do índice de iodo	Isômeros <u>trans</u> formados
	<u>%</u>	<u>min</u>		<u>%</u>
Níquel electrolítico	0,05	125	4,0	2,2
Níquel electrolítico	0,10	70	2,5	1,5
Níquel electrolítico	0,20	50	3,5	2,2
Paládio sobre carvão	0,008	40	6,8	9,0

\* Constante da taxa de dispersão de hidrogênio, 105°C, pressão de H<sub>2</sub> de 20 psig.

As condições ótimas para destruição dos grupos de ácido ciclopropeno por hidrogenação, como indicado por esta série de experimentos, foram 0,1% de níquel, 105-115°C e 20 psig de pressão de hidrogênio. A faixa de temperatura de 97-116°C poderia ser empregada sem causar uma redução excessiva do valor do índice de iodo ou a formação de uma quantidade objeccionável de isômeros trans.

Como verificação final das condições referidas, 1.000 g de óleo foram hidrogenados usando-se 113,5°C, 0,1% de níquel e 20 psig de pressão de hidrogênio. Duas amostras desse óleo foram retiradas, uma após 65 min e outra após 70 min. Após 65 min, achou-se um teste de Halphen ligeiramente positivo, enquanto que a amostra de 70 min deu um teste negativo. Como a curva da fig. 1 indicava que a destruição do material Halphen positivo se completaria em 63 min, o tempo pode variar algo com o tamanho da massa ou ser influenciado



pela retirada das amostras durante a operação. O valor do índice de iodo deste óleo tratado foi reduzido de 3,2 unidades em 70 min. Apenas 1,8% de isômeros trans foram formados.

### Hidrogenações em aparelho de vidro

As condições ótimas para destruir grupos de ácido ciclopropeno de preferência a hidrogenar outros grupos de ácido insaturado, como determinado pelo aparelho de aço inoxidável, foram utilizadas para algumas hidrogenações no aparelho de vidro. Os resultados confirmaram o fato bem estabelecido de que a hidrogenação é uma reação complexa e que condições de operação semelhantes não produzem totalmente os mesmos resultados em diferentes hidrogenadores. Entretanto, com alguma modificação nas condições de operação, os produtos finais obtidos no aparelho de vidro, poderiam ser feitos iguais ou melhores do que aqueles obtidos no aparelho de aço inoxidável.

Pelo menos algumas variáveis de operação não mudavam a reatividade relativa dos grupos de ácido ciclopropeno comparada com aquela dos grupos linoleoil. Uma série de hidrogenações foi efetuada em que apenas a velocidade de agitação foi variada. As constantes foram uma concentração de catalisador de 0,1% de níquel e temperatura de reação de 120°C. O tempo requerido para reduzir o valor do índice de iodo de aproximadamente duas unidades, que destruíam a resposta ao teste de Halphen em todos os casos, variou de 210 minutos a 300 r.p.m. para 60 minutos a 500 r.p.m. A diminuição exata no valor do índice de iodo durante a última hidrogenação foi de 2,1 unidades e a quantidade de isômeros trans formados foi de 1,2%.

O uso de misturas de hidrogênio e nitrogênio em lugar de hidrogênio puro, foi experimentado com a dupla idéia de que a técnica podia aumentar a hidrogenação preferencial dos grupos de ácido ciclopropeno a ser empregada em hidrogenações de escala comercial, em que o abaixamento da velocidade de hidrogenação por outros meios podia ser inconveniente.

Nas primeiras tentativas para usar uma mistura de hidrogênio e nitrogênio, foram empregadas porcentagens de volume de hidrogênio bem abaixo de 50, porém estas deram velocidades muito lentas. Quando a concentração de hidrogênio foi aumentada para 50%, uma hidrogenação a 120°C com 0,1% de catalisador de níquel requereu 360 minutos para destruir a resposta do óleo ao teste de Halphen. Entretanto, o valor do índice de iodo diminuiu de apenas 1,8 unidades e apenas 2,1% de isômeros trans se formaram.

### Invernalização

Lowenstein (4) relatou que uma ligeira hidrogenação do óleo de algodão fazia "a separação de estearina do óleo muito mais fácil e mais efetiva", quando a invernalização era efetuada para produção de óleo de salada. Aparentemente, estava empenhado apenas na facilidade de separação da estearina e não fez referência aos rendimentos. Os autores também verificaram que o óleo ligeiramente hidrogenado era invernalizado muito mais facilmente; a velocidade de filtração era grandemente melhorada em relação àquela do óleo não hidrogenado. Entretanto, também foi verificado que a hidrogenação aumentava o rendimento de óleo invernalizado. Como exemplo, um óleo hidrogenado em que o valor do índice de iodo tinha sido reduzido de 3,2 unidades e o conteúdo de isômeros trans aumentado de 1,8%, rendia 80,2% de óleo invernalizado com um teste frio de 41 horas, enquanto que o óleo não hidrogenado rendia apenas 68,3% do óleo invernalizado com um teste frio de 17 horas.

### LITERATURA

1. American Oil Chemists' Society. Official and Tentative Methods, 2nd ed., rev. to 1961, Chicago, 1946-61.
2. DEUTSCHMANN, A.J.Jr. & KLAUS, I.S. Anal. Chem. 32: 1809-1810, 1960.



3. FAURE, P.K. Naure 178: 372, 1956.
4. LOWENSTEIN, A., U.S. 1.187,999, 1916.
5. MASSON, J.C., VAVICH, M.G., HEYWANG, B.W. & KEMMERER A.R. Science 126: 751, 1957.
6. MOORE, H.K., RICHTER, G.A. & VAN ARSDEL, W.B. J. Ind. Eng. Chem. 9: 451-462, 1917.
7. PAAL, C., & ROTH, K. Ber. 42: 1541-1553, 1909.
8. SHENSTONE, F.S., & VICKERY, J.R. Poultry Sci. 38: 1055-1070, 1959.
9. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. Nature 190: 168, 1961.

## AMIDO DE MANDIOCA POR VIA SÊCA E ÚMIDA

Policarpo Vitti

## RESUMO

As raízes de mandioca, para extração de amido, devem estar em estado fresco, com um tempo de armazenamento máximo de 36 horas após a sua colheita. A produção de amido, a partir de raízes desidratadas, poderá eliminar, em parte, essa exigência.

O presente trabalho compara os resultados obtidos com cinco clones de mandioca, quanto à extração do amido por vias sêca e úmida. O comportamento viscosográfico das amostras foi determinado num amilógrafo-viscógrafo de Brabender. Os dados mostraram que havia uma marcante diferença na qualidade do amido obtido por ambos os processos, com valores mais altos de viscosidade para o extraído por via úmida. As curvas viscosográficas padrões do amido obtido por ambos os processos eram características para o amido de mandioca.

## SUMMARY

DRY AND WET ISOLATION OF CASSAVA STARCH. The cassava roots for processing must be fresh, with a maximum storage time of 36 hours after harvesting. The dehydration of roots for the production of starch (dry process) could in part reduce this requirement.

In this paper, the results obtained from an experiment carried out with 5 cassava strains, using dry and wet processes for starch isolation, were compared. The viscographic behavior of the samples, as



*determined by the Amilograph-Viscograph Brabender, showed a marked difference on starch quality in favor to the wet extraction. The viscosity was higher in starch obtained by wet process. The pattern viscograph curves of starch obtained by either process were characteristics to the cassava starch.*

## INTRODUÇÃO

Como é do conhecimento dos consumidores de mandioca para fins industriais, toda matéria-prima que chega à fábrica deverá ser utilizada dentro de 36 horas no máximo, a fim de ser evitado qualquer início de fermentação ou o seu escurecimento por ação enzimica. Conforme se sabe, o alto teor de umidade das raízes, favorece essa deterioração.

Por êsse motivo, a indústria é forçada a trabalhar com essa matéria-prima durante um período bastante restrito do ano, que corresponde, praticamente, ao da colheita da mandioca.

O presente estudo teve por objetivo verificar a qualidade do amido de mandioca obtido por via seca, em comparação com o extraído por via úmida, possibilitando, assim, informações que pudessem ser úteis às futuras investigações sobre a utilização industrial dessa matéria-prima.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O material utilizado para os estudos, compreendia raízes de cinco clones de mandioca fornecidos pela Secção de Raízes e Tubérculos do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo, sob as seguintes designações: 12-55, 12-58, 12-109, 12-135 e 12-178.

A amostra de cada clone compunha-se de quatro raízes, das quais duas foram utilizadas para extração de amido por via seca e duas por via úmida.

Na obtenção do amido, por via úmida, foi seguido o seguinte processo: lavagem das raízes e descascamento; trituração das raízes descascadas por via úmida; peneiragem e seleção em peneiras de 80, 200 e 400 "mesh"; decantação e centrifugação; pré-secagem a vácuo; secagem final a vácuo de 25 polegadas de Hg/cm<sup>2</sup> e à temperatura de 45-65°C; trituração dos blocos secos e peneiragem em peneira de 400 "mesh".

No material resultante, procedeu-se à determinação das características viscográficas, determinando-se, previamente, o seu teor de umidade.

Para o amido obtido por via seca, o processo seguido foi o seguinte: descascamento das raízes; sectionamento das raízes descascadas em fatias finas; secagem das fatias em secador de ventilação forçada, à temperatura de 40-65°C, até umidade final de aproximadamente 10%; moagem das raspas em moinho Miag; peneiragem do produto em peneira de 400 "mesh".

Nas amostras assim obtidas, designadas por R-12-55, R-12-58, R-12-109, R-12-135 e R-12-178, também foi feita a determinação das características viscográficas, assim como, previamente, a do seu teor de umidade.

As características viscográficas foram determinadas em amilógrafo-viscógrafo de Brabender, empregando-se 40 gramas de amido com teor de 15% de umidade, suspensos em água destilada e imediatamente colocados no copo do aparelho. Ajustou-se a temperatura de 25°C, que foi, em seguida, aumentada à razão de 1,5°C por minuto, até atingir 90°C. Manteve-se a temperatura a este nível durante 20 minutos, reduzindo-a, em seguida, à razão de 1,5°C por minuto, até atingir 50°C.



Das curvas de viscosidade obtidas foram registrados os seguintes valores ou parâmetros:

1. Temperatura inicial de gelatinização, em  $^{\circ}\text{C}$ .
2. Temperatura da viscosidade máxima, em unidades Brabender.
3. Viscosidade máxima ou pico de viscosidade, em unidades Brabender.
4. Viscosidade a  $90^{\circ}\text{C}$ , em unidades Brabender.
5. Viscosidade após 20 minutos a  $90^{\circ}\text{C}$ , em unidades Brabender.
6. Viscosidade a  $50^{\circ}\text{C}$ , em unidades Brabender.
7. Viscosidade após 20 minutos, à temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ , em unidades Brabender.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No quadro 1 estão indicados os valores de viscosidade das amostras de amido dos cinco clones de mandioca estudados, obtidos por vias seca e úmida. Nas figuras 1 a 4 estão representadas as respectivas curvas viscográficas.

Observou-se, que o aspecto dos amidos extraídos por via úmida era melhor comparativamente àqueles obtidos por via seca.

Pode-se observar, pelos gráficos das figuras 1 a 4, o comportamento diferencial dos amidos. De modo geral, a temperatura de gelatinização situou-se ao redor de  $60^{\circ}\text{C}$ , não variando, quer com o processo de extração de amido, quer com o clone de mandioca.

As curvas exibem aspecto característico aos amidos de raízes. Contudo, os amidos obtidos por via seca mostram dois picos à temperatura elevada, conforme se pode observar pelo exame dos gráficos das figuras 1 a 4. Isso indica que podem ser seguidos dois es-

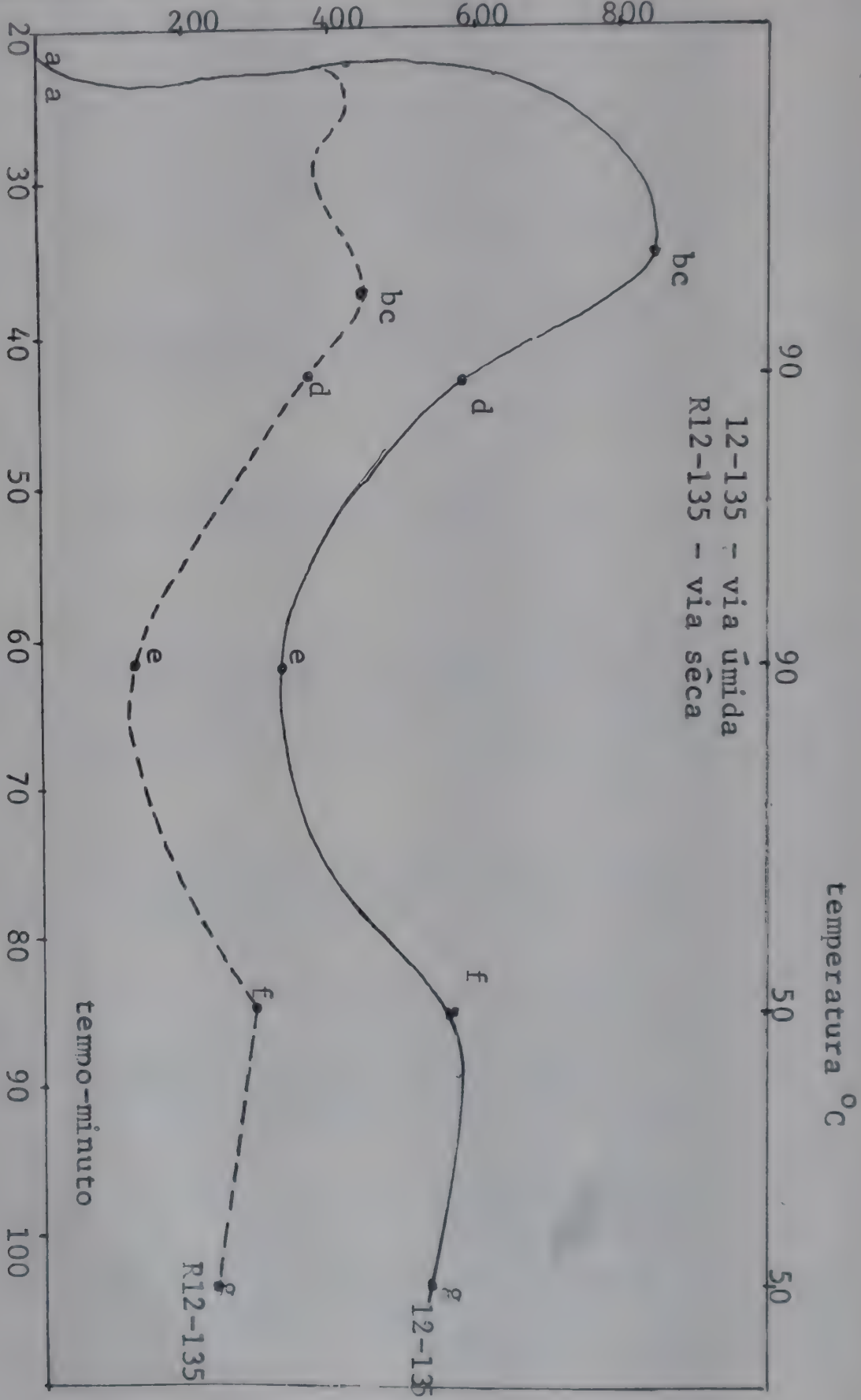
Quadro 1. Características viscográficas dos amidos de mandioca, segundo os clones e as extrações por via úmida e seca.

Amostra de amido *	Temp. inicial de gelatinização	Temp. de viscosidade máxima em U.B.	Viscosidade máxima	Visc. a 90°C	Visc. após 20 minutos a 90°C	Visc. a 50°C	Visc. após 20 minutos a 25°C
	<u>OC</u>	<u>OC</u>	<u>U.B.</u>	<u>U.B.</u>	<u>U.B.</u>	<u>U.B.</u>	<u>U.B.</u>
12-135	61,0	76,0	840	590	340	570	550
12-55	61,0	80,0	890	630	370	510	490
12-58	60,0	79,0	810	650	370	590	560
12-109	59,0	73,0	870	480	320	550	550
12-178	61,0	76,0	890	630	360	520	520
R-12-135	61,5	81,0	420	340	160	240	220
R-12-55	61,5	66,0	440	290	160	230	210
R-12-58	60,0	65,0	420	300	160	220	200
R-12-178	60,0	77,0	450	340	180	270	240

\* A amostra R-12-109 foi perdida durante as análises e por isso não consta do quadro.



Fig. 1. Curva viscográfica comparativa de amido de mandioca obtido por via sêca e úmida do clone 12-135.



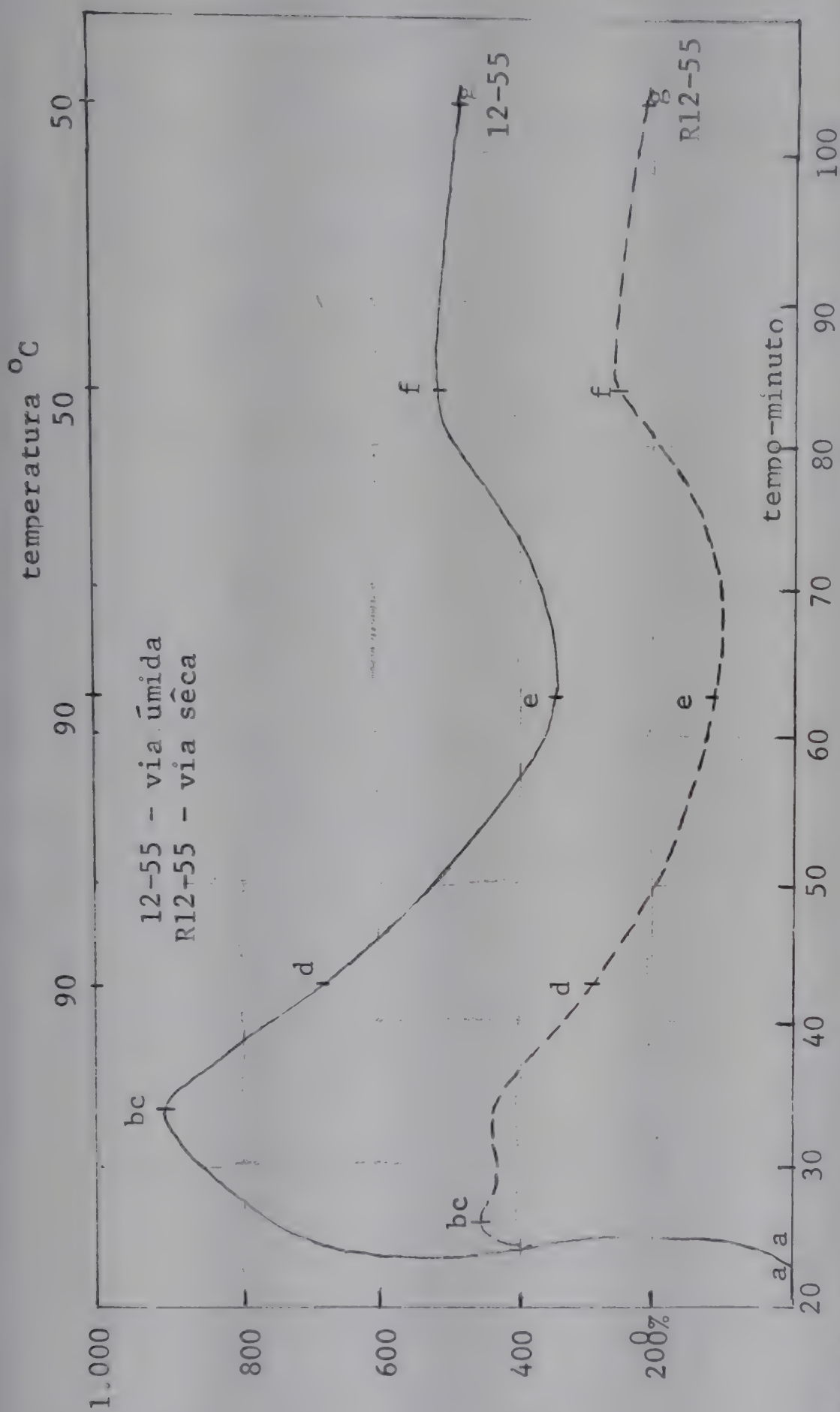
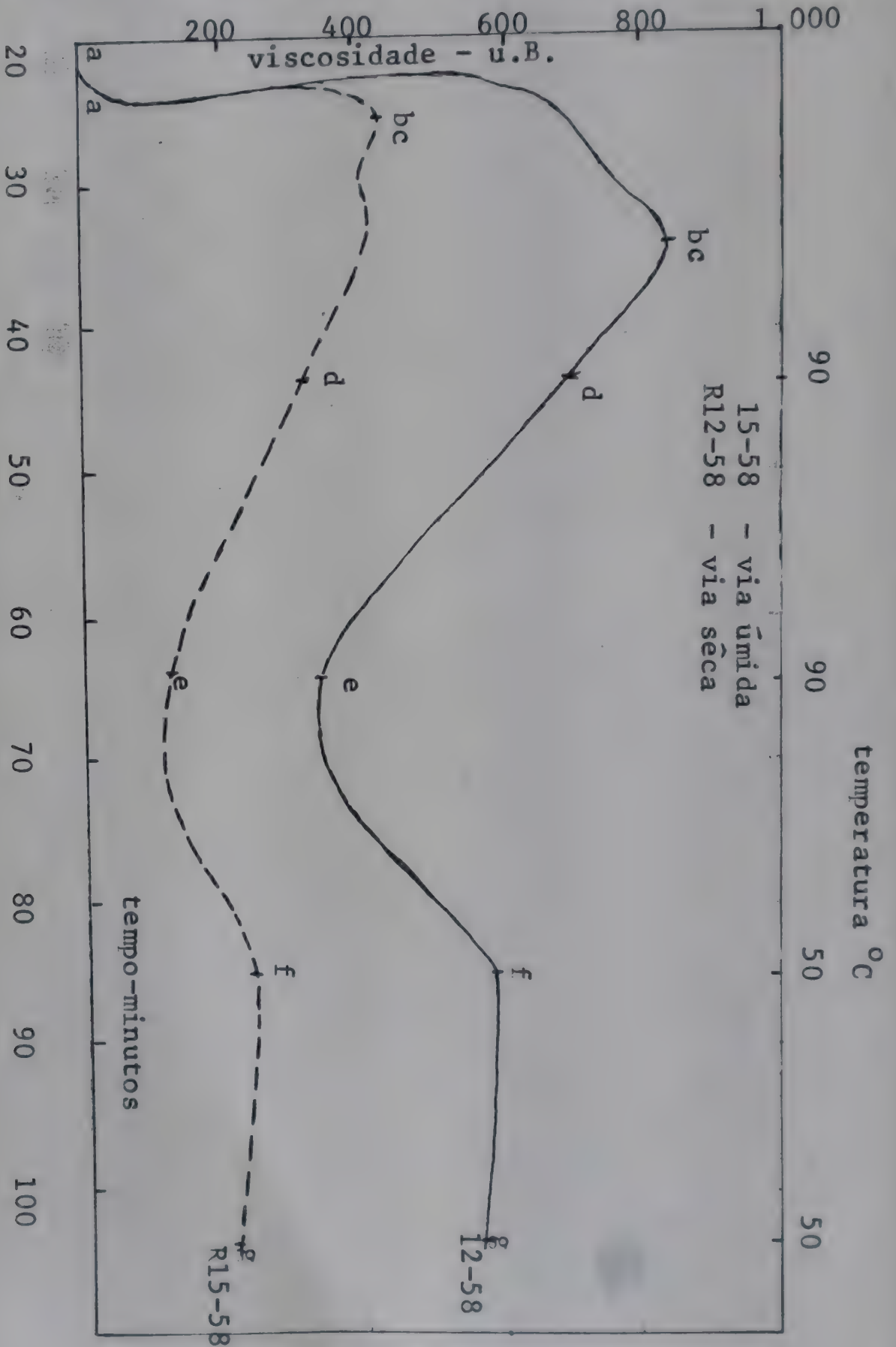


Fig. 2. Curva viscosográfica comparativa de amido de mandioca obtido por via seca e umida do clone 12-55.



Fig. 3. Curva viscográfica comparativa de amido de mandioca obtido por via sêca e úmida do clone 12-58.



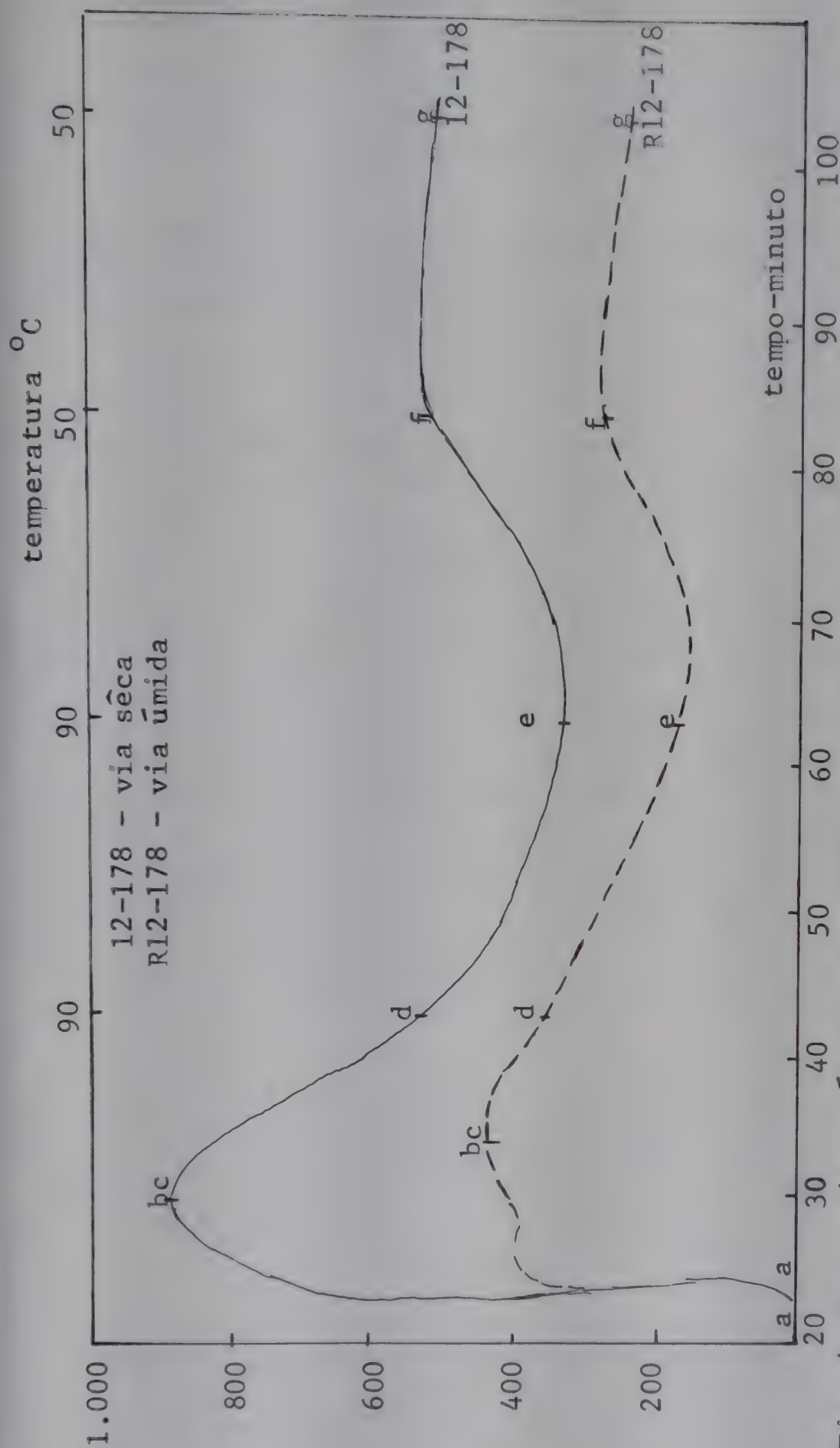


Fig. 4. Curva viscográfica comparativa de amido de mandioca obtido por via seca e úmida do clone 12-178.



tágios durante o processo de cozimento: um até atingir o primeiro pico, e o outro, o segundo pico. Do ponto-de-vista econômico, seria interessante o primeiro estágio. Isso mostra, também, que a goma de amido perde um pouco da sua estabilidade durante o cozimento.

Quanto à temperatura de viscosidade máxima, nota-se que não houve qualquer relação com os tipos de amido, tampouco com os clones estudados. De modo geral, situou-se em torno de 65-81°C.

Como se pode verificar pelos dados do quadrol, os valores de viscosidade máxima foram mais altos para os amidos extraídos por via úmida do que para aqueles por via seca, situando-se entre 810 a 890 e 420 a 450 unidades Brabender, respectivamente. Dos clones estudados, o 12-55 e 12-178 foram aqueles que apresentaram os valores mais altos. A diferença entre os valores para os amidos extraídos por via úmida e por via seca, foi muito grande e chegou a ser até mesmo o dobro. Isso revela que o tipo de processamento altera profundamente as qualidades físico-químicas do amido. Uma das causas é que no processo de extração a seco, os grânulos de amido são danificados e perdem sua estrutura característica. Quando suspensos em água e aquecidos, não têm a propriedade de absorver a água, mas se entumescem igualmente como os grânulos normais. Consequentemente, a viscosidade de sua goma será menor.

Pode-se observar, ainda, pelo exame das figuras 1 a 4 e pelo quadro 1, que os demais parâmetros da curva de viscosidade foram sempre menores no caso dos amidos extraídos por via seca. Os valores de viscosidade a frio foram, nesse caso, menores do que aqueles obtidos a quente, resultando disso um valor de "set-back" positivo. A estabilidade da sua goma a frio, como se pode observar, é relativamente boa, com pequena variação na viscosidade após 20 minutos a 50°C. A maior diferença é de 30 unidades Brabender, a qual ocorreu com os amidos dos clones R-12-178 e 12-58.

Em conclusão, pode-se afirmar que:

a) Os amidos obtidos por via úmida apresentaram, em todos os clones estudados, parâmetros da curva maiores do que aqueles por via seca;

b) A temperatura inicial de gelatinização manteve-se praticamente a mesma em ambos os casos, situando-se ao redor de 61°C; e

c) Houve uma ligeira diferença nos valores dos parâmetros das curvas viscográficas, segundo o tipo do clone.

#### LITERATURA

1. MAZORS, E.G., SCHOOCH, T.J. & KITE, F.E. Graphical analysis of the Brabender viscosity curves of various starches. Cereal Chem. 34: 141-135, 1957.
2. WHISTLER, R.L. & PASCHALL, E.F. In Starch, chemistry and technology. Academic Press, New York and London, v. 2, p. 103-119, 569-635, 1967.





## ESTUDO DE ÁLCOOL METÍLICO EM VINHOS NACIONAIS

Takuo Hashizume  
Roberto H. Moretti

### RESUMO

*Nada ou muito pouco se sabe sobre o teor de álcool metílico em vinhos nacionais. Assim sendo, este trabalho consistiu em averiguar o teor dessa substância em 229 amostras de vinhos de vários tipos, provenientes de diversas regiões vitivinícolas do País.*

*O método analítico seguido foi aquele preconizado pela legislação italiana.*

*Constatou-se que o teor de álcool metílico, por litro de vinho, variava de 0,08 a 0,42 cc. O teor normalmente encontrado nos vinhos varia entre 36-350 mg (= 0,05 - 0,45 cc) por litro, o que está muito aquém da dose considerada prejudicial à saúde, porém esse álcool acumula-se facilmente nos tecidos e no sangue, visto ser metabolizado muito lentamente.*

*A legislação brasileira não determina limites para esse componente do vinho. Confrontando, porém, aquelas determinações, com os limites estabelecidos pela legislação italiana, verifica-se que uma pequena porcentagem dos vinhos nacionais analisados apresentava teores acima daquele previsto pela legislação vigente na Itália.*

### SUMMARY

*THE METHYL ALCOHOL CONTENT IN BRAZILIAN WINES. The methyl alcohol content in Brazilian wines has never been investigated. So, in this paper the results of an*

investigation about the subject are presented and discussed.

More than two hundred wine samples coming from different parts of the country were analyzed according to the method adopted by the Italian law.

The methyl alcohol contents of these samples were found to vary from 0.08 to 0.42 cc per liter. The normal content ranges from 36 to 350 mg (0.05-0.45cc) per liter, which is admitted to be quite tolerable by the public health legislation. However, some literature suggests that it can be accumulated in the human blood and tissues causing chronic disease.

The Brazilian law has not established the maximum limit for methyl alcohol in its wines. A few of the wine samples analysed showed that the methyl alcohol content were higher than the limit above.

## INTRODUÇÃO

O objetivo deste trabalho foi o de determinar o teor de álcool metílico em vinhos nacionais.

Nos países tradicionalmente enológicos, como a Itália, por exemplo, têm-se dado muita importância a esse componente do vinho.

O álcool metílico é um produto natural existente nos vinhos, originando-se da hidrólise enzimática do grupo metoxila de substâncias pecticas presentes na uva (5). Se bem que o teor normalmente encontrado nos vinhos varie de 36 a 350 mg por litro (6), limites esses muito aquém do conteúdo considerado prejudicial à saúde, sabe-se, por outro lado, que esse álcool se acumula facilmente nos tecidos e no sangue. Sua metabolização é tão lenta que, após 48 horas da sua ingestão, cerca de 30% do metanol ainda permanecem no organismo (4). O metanol é o mais tóxico de todos os ál-



coois, provocando no organismo a queda de temperatura, paralisia profunda e congestão, seguindo-se de acidentes hemorrágicos graves (5).

O metanol acumulado nos tecidos transforma-se em aldeído fórmico e ácido fórmico, substâncias estas tóxicas ao organismo humano, especialmente ao sentido da visão (5). Os indivíduos hiperssensíveis muitas vezes ficam cegos após a ingestão de 15 cc de metanol (4). Evidentemente, a dose letal varia dentro de limites bastante amplos, segundo a maior ou menor sensibilidade do indivíduo. Sabe-se que a dose ingerida em uma única vez pode variar de 30 a 100cc (2). As intoxicações agudas aparecem quase sempre em indivíduos que ingerem licores ou aperitivos falsificados, que contêm proporção elevada de metanol (4).

Tendo em vista as propriedades maléficas desse álcool e, conseqüentemente, o bem estar da saúde pública, a legislação italiana fixou, segundo o D.P.R. nº 162, de 12 de fevereiro de 1965, os teores máximos desse componente nos seus vinhos de consumo direto, em 0,20 e 0,25 cc de metanol por 100 cc de álcool anidro, para os vinhos brancos e tintos, respectivamente.

Em virtude da inexistência de trabalhos sobre o assunto, em nosso País, assim como dos limites de tolerância desse componente nos vinhos nacionais pela legislação brasileira, os resultados aqui relatados serão correlacionados com os dados de trabalho estrangeiros.

## MATERIAL E MÉTODO

Sabe-se que o conteúdo de metanol nos vinhos varia com o teor de substâncias pécnicas nas uvas, a duração da fermentação com a casca, as condições climáticas, as doenças e os tratos culturais da videira (2).



A finalidade deste trabalho consistiu em averiguar o teor de álcool metílico em vinhos nacionais. Portanto, as amostras utilizadas para exame foram adquiridas no comércio, nas indústrias e nos postos de análises de vinho do Instituto de Fermentação do Ministério da Agricultura.

Atualmente, a técnica de vinificação de vinhos brancos secos se processa na ausência da casca. Entretanto, em muitas regiões vitivinícolas do País, esta técnica ainda não é adotada, motivo pelo qual os vinhos brancos nacionais foram incluídos nesta pesquisa.

A determinação do metanol foi baseada no método oficial de análise do Ministério da Agricultura e Floresta da Itália (1), que se baseia no reativo de Schiff, usando-se, para comparação, uma solução padrão de metanol.

As determinações foram feitas no espectrofotômetro DB-Beckman, com luz visível 520 mμ.

Os resultados de metanol são expressos a partir da leitura no colorímetro, confrontando-os com a curva padrão em cc de metanol por 100 cc de álcool etílico a 90 G.L.

O presente trabalho foi efetuado em duas etapas:

1a. etapa. Em outubro de 1967, foram coletadas e analisadas 113 amostras de vinhos originários de diferentes regiões vitivinícolas do País. Os resultados obtidos nas análises foram apresentados no XVI Congresso Brasileiro de Química, realizado em Campinas em 10 de novembro de 1967.

2a. etapa. Em maio e agosto de 1968, foram coletadas e analisadas 117 amostras de vinhos procedentes dos postos de análise de vinho, sediados em São Paulo, e da Subestação de Enologia, em São Roque.

Os resultados das análises são apresentados, separadamente, de acôrdo com a procedência abaixo indicada:

Estado de São Paulo

1. Região de São Roque
2. Região de Campinas
3. Região de Jundiaí
4. Região de Franco da Rocha

Estado de Minas Gerais

5. Região de Andradas

Estado do Rio Grande do Sul

6. Regiões de Caxias do Sul, Bento Gonçalves, Garibaldi e Farroupilha

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As determinações de extrato sêco, calculadas em função do Brix do vinho desalcoolizado, acham-se indicadas na coluna 1, do quadro 1.

Na coluna 2 do referido quadro, estão indicados os resultados da graduação alcoólica do vinho original, determinados com alcoômetro de Dujardin-Salleron (15°C). Na coluna 3, estão os dados do teor de metanol em cc por 100 cc de álcool etílico anidro, que se faz em função dos dados obtidos da curva padrão. Na coluna 4, estão apresentados os teores de metanol em cc por litro do produto, utilizando-se, para seu cálculo, a fórmula seguinte, proposta por STELLA (2):

$$M = \frac{a \cdot A}{10}$$



em que:

$a$  = cc de álcool metílico por 100 cc de álcool anidro.

$A$  = grau alcoólico em volume por 100 cc de produto.

$M$  = cc de álcool metílico em um litro do produto.

Finalmente, na coluna 5, estão os dados de teores de metanol em mg por litro de produto, calculados em função da densidade do metanol e cc de metanol em um litro do produto.

Os resultados dos exames procedidos nas 229 amostras de vinhos nacionais, estão indicados no quadro 1.

As discussões são apresentadas em função do teor de metanol por litro do produto, visto que, nessa forma, torna-se mais fácil avaliar os dados numéricos.

Examinando-se os dados do quadro 1, verifica-se que o teor máximo de metanol, por litro, foi de 0,42 cc e mínimo de 0,06 cc. Para uma melhor apreciação, os dados obtidos foram resumidos nos quadros 2, 3, 4, 5, 6 e 7.

Os dados do quadro 2, referentes aos vinhos de São Paulo (SP), mostram que para os vinhos tintos obteve-se um teor máximo de 0,37 cc de metanol por litro e um mínimo de 0,09 cc, com média 0,21 cc, em 44 amostras estudadas. Para vinhos brancos secos, os teores máximo, mínimo e médio de metanol e cc por litro foram de 0,22, 0,08 e 0,15, respectivamente, em 24 amostras estudadas.

Para vinhos licorosos doces, obteve-se, em 49 amostras examinadas, um teor máximo de 0,27 cc de metanol por litro, e um mínimo de 0,11 cc, com uma média de 0,15 cc.



De modo geral, pode-se considerar que os vinhos de São Roque estudados apresentavam teores de metanol relativamente baixos. Somente no caso de vinhos tintos, 4,5% das amostras exibiam um teor acima do limite da legislação italiana.

No quadro 3, estão os dados referentes aos exames dos vinhos de Jundiaí (S.P.), os quais deram um teor máximo de 0,42 cc de metanol por litro, e um mínimo de 0,10 cc, com uma média de 0,22 cc, em 7 amostras estudadas. Observa-se que os produtos dessa localidade exibem um teor mais elevado de metanol, porém, a porcentagem das amostras com teores acima do limite da legislação italiana é ao redor de 14%.

No quadro 4, estão indicados os resultados dos exames referentes aos vinhos de Franco da Rocha (S.P.) os quais também podem ser considerados baixos. O teor máximo encontrado foi de 0,22 cc de metanol por litro, e o mínimo de 0,12 cc, com uma média de 0,14 cc, nas 8 amostras analisadas.

No quadro 5 estão resumidos os dados das 21 amostras de vinhos da região de Andradas (MG). Foram encontrados 0,22 cc, 0,10 cc e 0,15 cc de metanol por litro, respectivamente, como máximo, mínimo e médio. Pode-se considerar que os teores encontrados foram baixos.

No quadro 6, estão os vinhos de Campinas (S.P.), produzidos no Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, os quais mostram um teor máximo de 0,19 cc de metanol por litro, e um mínimo de 0,09 cc, com uma média de 0,14 cc. Os referidos vinhos apresentam teores baixos de metanol.

Finalmente, no quadro 7 estão resumidos os resultados das análises de 68 amostras de vinhos do Rio Grande do Sul, sendo 61 de vinhos tintos e 7 de vinhos brancos e licorosos. Nos primeiros, os teores máximo e mínimo encontrados foram 0,41 e 0,06 cc de metanol por litro, respectivamente, e com um teor

médio de 0,18 cc. Nos segundos, os teores máximos, mínimo e médio de metanol por litro foram 0,14, 0,08 e 0,11 cc, respectivamente. Os resultados mostram que os vinhos do Rio Grande do Sul apresentam um teor de metanol baixo, pois somente 16,4% dos vinhos tintos analisados, apresentaram teores acima da legislação italiana.

Em relação aos vinhos brancos, os teores encontrados são baixos, devendo-se isto, provavelmente, à fermentação em branco, pois, essa prática é muito empregada naquele Estado.

### CONCLUSÃO

Com base nos resultados do presente estudo, pode-se concluir que os vinhos nacionais apresentam teores de metanol de 0,10 a 0,20 cc por litro, portanto, aquém dos limites da legislação italiana vigente.

Expressando os resultados em mg por litro, verifica-se que o teor máximo encontrado foi de 334 mg e o mínimo de 48 mg, com uma média de 129 mg para as 229 amostras de vinhos estudadas. Confrontando-os com aqueles apresentados por MASCOLO (3), referentes a 318 amostras de vinhos da província de Modena e Reggio-Emília, na Itália, pode-se considerar que os vinhos nacionais apresentam teores bem inferiores. Os dados apresentados por MASCOLO são: teor máximo 0,90 cc de metanol por 100 cc de álcool anidro; teor mínimo 0,05 e média 0,27, isto é, em relação à legislação italiana, 46,76% dos vinhos por ele estudados apresentavam teores de metanol acima do limite por ela estabelecido. Isto pode ser explicado pela dificuldade de extração das antocianinas das cascas das uvas tintas, razão pela qual nos países europeus a fermentação em presença das cascas é mais prolongada, a fim de haver possibilidade para uma maior extração da cor. Esse fato é comprova-



do pelos exames dos vinhos brancos, que devido à fermentação em branco, apresentam teores de metanol muito baixos.

No caso do Brasil, em que a maioria dos vinhos é produzida com híbridos de viníferas e americanas, cujos pigmentos antociânicos existem em abundância, não há necessidade de longa permanência do bagaço no vinho, motivo pelo qual os teores em álcool metílico observados terem sido baixos em relação aos teores do referido álcool, nos vinhos italianos.



Quadro 1. Resultados dos exames procedidos nas 229 amostras de vinhos nacionais.

Amostra, tipo de vinho e procedência	M E T A N O L				
	Extrato sêco %	Grau alcoólico % vol.	cc % álcool anidro	cc % produto	mg % produto
	1	2	3	4	5
SÃO ROQUE (SP)					
1 - Tinto sêco	2,00	10,0	0,16	0,16	132
2 - "	2,87	10,4	0,16	0,16	127
3 - "	2,42	11,2	0,18	0,20	159
4 - "	2,96	10,0	0,25	0,25	199
5 - "	2,48	12,0	0,14	0,16	127
6 - "	2,06	10,2	0,13	0,13	103
7 - "	2,52	11,6	0,16	0,18	143
8 - "	2,67	10,4	0,30	0,31	246
9 - "	2,52	10,8	0,13	0,14	111
10 - "	2,52	11,2	0,22	0,24	191
11 - "	2,67	10,0	0,22	0,22	175
12 - "	2,29	10,4	0,22	0,22	175
13 - "	2,26	11,6	0,23	0,26	206
14 - "	2,42	10,4	0,19	0,19	151
15 - "	2,11	12,0	0,08	0,09	71

Quadro 1 (continuação)

16- 17- 18- 19- 20- 21- 22- 23- 24- 25- 26- 27- 28- 29- 30- 31- 32- 33- 34- 35- 36- 37- 38- 39-	Tinto seco				
16-	"	2, 32	11, 6	0, 22	0, 25
17-	"	2, 64	13, 2	0, 18	0, 24
18-	"	2, 43	12, 2	0, 18	0, 22
19-	"	2, 84	11, 4	0, 33	0, 37
20-	"	2, 95	12, 0	0, 25	0, 30
21-	"	2, 65	12, 2	0, 21	0, 25
22-	"	2, 45	11, 6	0, 14	0, 16
23-	"	2, 24	11, 4	0, 19	0, 21
24-	"	2, 84	12, 0	0, 14	0, 17
25-	"	3, 60	12, 8	0, 16	0, 20
26-	"	2, 65	11, 9	0, 16	0, 19
27-	"	2, 67	12, 2	0, 20	0, 24
28-	"	2, 45	11, 8	0, 16	0, 19
29-	"	3, 60	12, 2	0, 19	0, 23
30-	"	2, 20	11, 4	0, 19	0, 21
31-	"	2, 65	12, 0	0, 25	0, 30
32-	"	2, 65	11, 6	0, 19	0, 22
33-	"	2, 65	13, 8	0, 16	0, 22
34-	"	2, 65	11, 8	0, 19	0, 22
35-	"	2, 45	12, 6	0, 19	0, 24
36-	"	2, 24	11, 0	0, 19	0, 21
37-	"	2, 65	10, 4	0, 24	0, 23
38-	"	2, 45	10, 3	0, 19	0, 19
39-	"	2, 45	11, 8	0, 14	0, 16

(continua)

Quadro 1. (continuação)

40-	Tinto sêco	2,45	11,4	0,17	0,19	150
41-	" "	2,45	12,2	0,12	0,14	110
42-	" "	2,45	11,6	0,11	0,13	104
43-	Rosado sêco	2,43	11,4	0,21	0,24	191
44-	" "	-	10,0	0,19	0,19	150
45-	Branco sêco	1,91	11,2	0,16	0,17	135
46-	" "	1,67	11,2	0,20	0,22	175
47-	" "	1,91	10,4	0,15	0,15	119
48-	" "	1,97	10,0	0,08	0,08	63
49-	" "	2,78	12,0	0,11	0,13	103
50-	" "	2,11	12,6	0,08	0,10	79
51-	" "	2,21	12,4	0,14	0,17	135
52-	" "	1,91	11,8	0,15	0,17	135
53-	" "	1,47	10,4	0,09	0,09	71
54-	" "	2,17	10,8	0,16	0,17	135
55-	" "	1,91	11,4	0,12	0,13	103
56-	" "	1,85	13,0	0,09	0,11	87
57-	" "	2,20	12,2	0,19	0,23	183
58-	" "	2,20	11,9	0,14	0,16	127
59-	" "	2,20	11,0	0,12	0,13	104
60-	" "	2,24	11,4	0,11	0,12	95
61-	" "	2,24	12,1	0,14	0,17	135
62-	" "	2,20	12,9	0,12	0,15	120
63-	" "	2,24	12,0	0,14	0,16	127

(continua)



Quadro 1. (continuação)

64-	Branco	sêco	2, 24	13, 4	0, 14	0, 18	143
65-	"	"	2, 24	14, 2	0, 11	0, 15	120
66-	"	"	2, 20	12, 0	0, 11	0, 12	95
67-	"	"	2, 45	12, 0	0, 17	0, 22	175
68-	"	"	2, 24	11, 4	0, 09	0, 12	95
69-	"	Lic.doce	-	13, 6	0, 09	0, 12	95
70-	"	"	-	13, 2	0, 09	0, 11	87
71-	"	"	-	12, 0	0, 12	0, 14	111
72-	"	"	-	14, 0	0, 18	0, 25	199
73-	"	"	-	13, 6	0, 13	0, 17	135
74-	"	"	-	12, 8	0, 15	0, 19	151
75-	"	"	-	14, 8	0, 16	0, 23	183
76-	"	"	-	13, 6	0, 09	0, 12	95
77-	"	"	-	13, 6	0, 09	0, 12	95
78-	"	"	-	13, 6	0, 11	0, 14	111
79-	"	"	-	12, 8	0, 14	0, 17	135
80-	"	"	-	12, 8	0, 12	0, 15	119
81-	"	"	-	12, 8	0, 12	0, 15	119
82-	"	"	-	12, 4	0, 18	0, 22	173
83-	"	"	-	12, 8	0, 14	0, 17	135
84-	"	"	-	15, 6	0, 12	0, 18	143
85-	"	"	-	14, 0	0, 08	0, 11	87
86-	"	"	-	12, 8	0, 13	0, 16	127
87-	"	"	-	13, 8	0, 11	0, 15	120

(continua)

Quadro 1. (continuação)

88-	Branco	Lic.doce	Niagara	-	14,0	0,11	0,15	120
89-	"	"	"	-	12,6	0,11	0,14	110
90-	"	"	"	-	12,0	0,13	0,15	120
91-	"	"	"	-	14,8	0,11	0,16	127
92-	"	"	"	-	13,6	0,12	0,16	127
93-	"	"	"	-	15,2	0,11	0,16	127
94-	"	"	"	-	14,0	0,11	0,15	120
95-	"	"	"	-	13,0	0,11	0,14	110
96-	"	"	"	-	12,4	0,11	0,13	104
97-	"	"	"	-	13,0	0,21	0,27	215
98-	"	"	"	-	14,0	0,11	0,15	120
99-	"	"	"	-	13,2	0,11	0,14	110
100-	"	"	"	-	13,8	0,11	0,23	182
101-	"	"	"	-	13,8	0,11	0,15	120
102-	"	"	"	-	12,8	0,13	0,16	127
103-	Rosado	Lic.doce	Niagara	-	13,4	0,11	0,14	110
104-	"	"	"	-	12,8	0,11	0,14	110
105-	"	"	"	-	13,4	0,11	0,14	110
106-	"	"	"	-	13,8	0,11	0,15	120
107-	"	"	"	-	13,9	0,11	0,11	88
108-	"	"	"	-	13,4	0,12	0,16	127
109-	"	"	"	-	13,1	0,14	0,18	143
110-	"	"	"	-	12,8	0,11	0,14	110
111-	"	"	"	-	12,2	0,11	0,13	104

(continua)

Quadro 1. (continuação)

112-	Rosado	Lic.doce	Niágara	-	15,4	0,09	0,16	127
113-	"	"	"	-	13,4	0,11	0,14	110
114-	"	"	"	-	18,4	0,09	0,20	159
115-	"	"	"	-	15,0	0,09	0,16	127
116-	"	"	"	-	13,8	0,11	0,14	110
117-	"	"	"	-	13,8	0,11	0,15	120

JUNDIAÍ (SP)

118-	Branco	sêco		2,17	10,8	0,13	0,14	111
119-	Tinto	sêco		2,43	12,0	0,09	0,10	79
120-	"	"		3,60	10,4	0,41	0,42	334
121-	"	"	Seibel 2	2,87	12,7	0,20	0,25	199
122-	"	"	IAC-121-58	2,02	13,6	0,11	0,15	119
123-	Rosado	sêco		2,52	12,0	0,20	0,24	191
124-	"	"		2,08	10,0	0,24	0,24	191

FRANCO DA ROCHA (SP)

125-	Rosado	sêco		2,05	11,6	0,13	0,15	119
126-	Branco	Lic.doce		-	16,0	0,09	0,14	111
127-	Tinto	sêco		-	13,6	0,09	0,12	95
128-	"	"		2,17	11,2	0,20	0,22	175
129-	"	"		1,82	11,2	0,12	0,13	103
130-	"	"		2,66	10,4	0,12	0,12	95

(continua)



Quadro 1. (continuação)

131- Tinto sêco	2,43	10,0	0,12	0,12	95
132- " Lic.doce	8,30	14,0	0,12	0,16	127

CAMPINAS (SP)

133- Tinto sêco IAC-B8-22	2,25	11,4	0,12	0,13	103
134- " " "	2,42	11,4	0,08	0,09	71
135- " " "	1,91	11,3	0,17	0,19	151
136- " " "	2,62	11,4	0,16	0,18	143
137- " " "	2,62	11,2	0,14	0,15	119
138- Branco sêco Rainha	1,82	10,4	0,12	0,12	95
139- " " "	2,01	11,0	0,10	0,11	87
140- Branco lic. moscatel	8,68	15,5	0,10	0,15	119

ANDRADAS (MG)

141- Rosado sêco	2,52	11,2	0,11	0,12	95
142- " "	2,25	12,4	0,09	0,11	87
143- " "	2,17	10,4	0,11	0,11	87
144- " "	2,32	11,6	0,11	0,12	95
145- " "	2,18	10,8	0,11	0,18	143
146- " "	2,00	10,8	0,12	0,12	95
147- " "	2,42	10,6	0,21	0,22	175
148- " "	2,08	10,8	0,15	0,16	127

(continua)

Quadro 1. (continuação)

149-	Tinto seco	1,91	12,8	0,12	0,15	119
150-	"	2,04	12,4	0,13	0,16	127
151-	"	2,28	11,6	0,15	0,17	135
152-	"	2,25	12,8	0,13	0,16	127
153-	"	2,17	11,6	0,16	0,18	143
154-	"	2,25	10,8	0,15	0,16	127
155-	"	1,85	10,8	0,20	0,21	167
156-	"	2,11	10,4	0,12	0,12	95
157-	"	2,22	11,6	0,18	0,20	159
158-	Branco seco	2,00	11,6	0,09	0,10	79
159-	Branco licoroso	2,14	18,0	0,08	0,14	111
160-	Rosado licoroso	2,72	15,6	0,08	0,12	95
161-	"	2,52	18,8	0,08	0,15	119

RIO GRANDE DO SUL

162-	Tinto seco Bonarda	2,15	10,4	0,16	0,16	127
163-	" Cabernet	2,43	10,4	0,31	0,32	254
164-	" Merlot	2,43	10,8	0,15	0,16	127
165-	"	2,43	11,6	0,13	0,15	119
166-	"	2,08	10,2	0,13	0,15	103
167-	"	2,17	11,0	0,15	0,16	127
168-	"	2,43	10,8	0,15	0,16	127
169-	"	2,28	11,6	0,13	0,15	119
170-	"	2,21	10,4	0,26	0,27	214

(continua)

Quadro 1. (continuação)

171-	Tinto	sêco	2,46	10,4	0,40	0,41	326
172-	"	"	1,91	11,2	0,26	0,29	230
173-	"	"	2,21	10,1	0,23	0,23	183
174-	"	"	1,91	10,0	0,30	0,30	238
175-	"	"	2,21	9,6	0,15	0,14	111
176-	"	"	2,02	9,9	0,13	0,13	103
177-	"	"	1,85	11,2	0,12	0,13	103
178-	"	"	2,29	10,2	0,27	0,27	215
179-	"	"	2,22	10,2	0,23	0,24	191
180-	"	"	1,81	10,0	0,11	0,11	88
181-	"	"	2,42	10,2	0,24	0,24	191
182-	"	"	2,12	10,4	0,16	0,16	127
183-	"	"	2,12	10,6	0,24	0,26	206
184-	"	"	2,18	10,5	0,25	0,27	215
185-	"	"	2,13	10,8	0,16	0,18	143
186-	"	"	2,23	10,4	0,20	0,21	166
187-	"	"	2,15	10,4	0,22	0,23	183
188-	"	"	2,43	10,4	0,21	0,22	175
189-	"	"	2,04	10,8	0,13	0,14	111
190-	"	"	2,42	9,8	0,23	0,23	183
191-	"	"	2,22	10,6	0,28	0,30	240
192-	"	"	2,15	11,0	0,16	0,18	143
193-	"	"	2,64	11,0	0,29	0,32	254
194-	"	"	2,15	9,6	0,18	0,17	135



Quadro 1. (continuação)

195-	Tinto	sêco	2,68	10,8	0,25	0,27	215
196-	"	"	3,11	11,0	0,25	0,27	215
197-	"	"	2,12	11,0	0,07	0,08	63
198-	"	"	2,29	11,0	0,07	0,08	63
199-	"	"	2,43	10,8	0,08	0,09	71
200-	"	"	2,43	10,4	0,23	0,24	191
201-	"	"	2,29	10,8	0,16	0,17	135
202-	"	"	2,53	11,0	0,12	0,13	103
203-	"	"	2,42	10,2	0,12	0,12	95
204-	"	suave	5,89	10,8	0,13	0,14	111
205-	"	"	4,75	10,3	0,12	0,12	95
206-	"	"	5,06	10,2	0,13	0,13	103
207-	"	"	5,00	11,2	0,12	0,13	103
208-	"	"	5,00	10,0	0,13	0,13	103
209-	"	"	9,13	10,4	0,12	0,12	95
210-	"	"	6,35	10,2	0,15	0,16	127
211-	"	"	6,50	10,6	0,05	0,06	48
212-	"	"	6,79	10,8	0,30	0,33	262
213-	"	"	9,28	10,8	0,18	0,19	150
214-	"	"	6,79	11,2	0,05	0,06	48
215-	"	"	5,29	10,2	0,14	0,14	111
216-	"	"	6,79	9,8	0,29	0,29	230
217-	"	"	7,71	10,4	0,24	0,25	199
218-	"	"	9,64	10,0	0,07	0,07	55

(continua)

Quadro 1. (continuação)

219-	Tinto suave	5,87	10,6	0,07	0,08	63
220-	" "	6,15	11,0	0,08	0,09	71
221-	" "	6,36	13,4	0,16	0,22	175
222-	Branco sêco	1,85	10,3	0,09	0,09	71
223-	" "	3,19	10,0	0,09	0,09	71
224-	" "	2,00	11,6	0,12	0,13	103
225-	" "	2,22	11,2	0,08	0,08	63
226-	" "	1,60	10,4	0,12	0,12	95
227-	Branco líc. doce	-	15,6	0,08	0,12	95
228-	" "	-	15,8	0,09	0,14	111
229-	Rosado sêco	3,31	10,4	0,20	0,20	159

Quadro 2. Teores máximo, mínimo e médio de metanol, em 36 amostras de vinho da região de São Roque.

Tipos de vinho	cc metanol % anidro	Teor de metanol	
		cc/l	mg/l
Vinhos tintos (16 amostras)			
Máximo .....	0,30	0,31	246
Mínimo .....	0,08	0,09	71
Médio .....	0,18	0,19	157
% de amostras com teor de metanol acima da legislação italiana .....	6,2	-	-
Vinhos brancos secos (12 amostras)			
Máximo .....	0,20	0,22	177
Mínimo .....	0,08	0,08	63
Médio .....	0,12	0,14	111
% de amostras com teor de metanol acima da legislação italiana .....	0,0	-	-
Vinhos licorosos doces (18 amostras)			
Máximo .....	0,18	0,25	199
Mínimo .....	0,09	0,11	87
Médio .....	0,12	0,16	128
% de amostras com teor de metanol acima da legislação italiana .....	0,0	-	-



Quadro 3. Teores máximo, mínimo e médio de metanol, em 23 amostras de vinho do Rio Grande do Sul.

Tipos de vinho	cc metanol % anidro	Teor de metanol	
		<u>cc/l</u>	<u>mg/l</u>
Vinhos tintos (16 amostras)			
Máximo .....	0,31	0,32	254
Mínimo .....	0,08	0,08	63
Médio .....	0,20	0,21	167
% de amostras com teor de metanol acima da legisla- ção italiana ....	25	-	-
Vinhos brancos, inclusive licorosos brancos (7 amostras)			
Máximo .....	0,12	0,14	111
Mínimo .....	0,08	0,08	63
Médio .....	0,095	0,11	87
% de amostras com teor de metanol acima da legisla- ção italiana ....	0,0	-	-

Quadro 4. Teores máximo, mínimo e médio de metanol determinados em amostras de vinho de Jundiaí, Andradas, Franco da Rocha e Campinas.

Tipos de vinho	cc de metanol % anidro	Teor de me- tanol	
		<u>cc/l</u>	<u>mg/l</u>
REGIÃO DE JUNDIAÍ			
Vinhos brancos e tintos (7 amostras)			
Máximo .....	0,41	0,42	334
Mínimo .....	0,09	0,10	79
Médio .....	0,19	0,22	175
% de amostras com teor de metanol acima da legisla- ção italiana.....	14,1%	-	-
REGIÃO DE ANDRADAS			
Vinhos tintos e brancos (21 amostras)			
Máximo .....	0,21	0,22	175
Mínimo .....	0,08	0,10	79
Médio .....	0,12	0,15	117
% de amostras com teor de metanol acima da legisla- ção italiana .....	0,0%	-	-
REGIÃO DE FRANCO DA ROCHA (8 amostras)			
Máximo .....	0,20	0,22	175
Mínimo .....	0,09	0,12	95
Médio .....	0,12	0,14	115
% de amostras com teor de metanol acima da legisla- ção italiana .....	0,0	-	-

(continua)

Quadro 4. (continuação)

Tipos de vinho	cc metanol % anidro	Teor de metanol	
		<u>cc/l</u>	<u>mg/l</u>
REGIÃO DE CAMPINAS			
Tintos e brancos (8 amostras)			
Máximo .....	0,17	0,19	151
Mínimo .....	0,08	0,09	71
Médio .....	0,12	0,14	111
% de amostras com metanol acima da legislação italiana .....	0,0	-	-

LITERATURA

1. Direzione Generale Della Tutela Economica Dei Prodotti Agricoli. In Metodi Ufficiali de analisi per i mosti e gli aceti. Ministério dell Agricoltura e delle Foreste, p. 118-119, 1965.
2. MASCOLO, A. Osservazione sul metodo ufficiale di analisi per la determinazione dell'alcole metilico nei vini e nei mosti. Rivista di Viticoltura e di enologia, 19: 213-219, 1966.
3. \_\_\_\_\_. Contenuto in alcole metilico dei vini prodotti nelle provincie di Modena e Reggio Emilia, Rivista di Viticoltura e di Enologia, 19: 337-359, 1966.
4. MASQUELIER, J. In Le vin dans l' alimentation humaine. Traité d'oenologia, Librairie Polytechnique Ch. Béranger, Paris et Liège, tome II, 106-108, 1961.



5. PISANTI, A. Ricerche sul contenuto in alcool metilico nei vini Irpini. Rivista de Viticoltura e di Enologia, 14: 425-431, 1961.
6. RIBÉREAU-GAYON, J. & PEYNAUD, E. In Análise et controle de vins. Librairie Polytechnique Ch. Béranger, Paris et Liège, 2a. ed., 261-264, 1958.

## LITERATURA

1. PISANTI, A. Ricerche sul contenuto in alcol metilico nei vini Irpini. Rivista de Viticoltura e di Enologia, 14: 425-431, 1961.
2. RIBÉREAU-GAYON, J. & PEYNAUD, E. In Análise et controle de vins. Librairie Polytechnique Ch. Béranger, Paris et Liège, 2a. ed., 261-264, 1958.

## MODIFICAÇÃO DO MÉTODO WESSON PARA DETERMINAÇÃO DA PERDA DE REFINAÇÃO EM ÓLEOS E GORDURAS \*

L. Hartman  
Regina C.A. Lago

### RESUMO

*Uma modificação do método Wesson é desenvolvida, segundo a qual a solução de 14% de KOH é substituída por uma solução a 40% de  $K_2CO_3$  e a de 50% de etanol por 50% de metanol aquoso. A modificação assegura uma economia de tempo e trabalho, em comparação com o método Wesson original e o processo cromatográfico.*

### SUMMARY

*A MODIFICATION OF THE WESSON METHOD FOR THE DETERMINATION OF THE REFINING LOSS IN OILS AND FATS. A modification of the Wesson method is developed according to which the 14% KOH solution is replaced by 40%  $K_2CO_3$  solution and 50% etanol by 50% aqueous metanol. The modification ensures economy in time and labour as compared with the original Wesson method and the chromatographic procedure.*

### INTRODUÇÃO

Para a determinação da perda mínima que se pode esperar durante a refinação alcalina de óleos e gorduras, dois métodos são empregados, a saber: o Wesson e o cromatográfico. Ambos removem os ácidos graxos livres e impurezas, tais como fosfatídeos, gomas e mucilagem, e o óleo resultante é descrito como

---

\* Tradução de J.C. Medina. Transcrito do Laboratory Practice 17(2):209-210, 1968.



"óleo neutro". Os resultados obtidos por ambos os métodos são, em geral, semelhantes, se bem que, às vezes, possam ocorrer diferenças de 0,5% ou mais.

A comparação desses métodos, no Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, tem mostrado que o processo Wesson é um tanto moroso, ao passo que o método cromatográfico, embora requerendo menos tempo, exige que se proceda à ativação do óxido de alumínio utilizado como adsorvente, para o que é preciso equipamento especial.

Várias modificações ao método Wesson original têm sido propostas, inclusive o emprêgo de frascos tamponados ou recipientes para amostra de óleo com sífões em lugar de funis de separação. Entretanto, tôdas essas modificações prescrevem como agente de refinação uma solução aquosa de KOH a 14%, que pode causar uma saponificação parcial do óleo neutro, se o conteúdo de ácido graxo livre fôr alto, o que resulta, às vezes, no aparecimento de emulsões.

Em vista dessas dificuldades, desenvolveu-se no Centro Tropical uma modificação do método Wesson, a qual elimina as desvantagens do método original e é menos trabalhosa que o cromatográfico, e que consta do seguinte:

a) substituição da solução de KOH a 14% por uma solução concentrada de  $K_2CO_3$ , o que possibilita uma separação mais rápida das fases e elimina o perigo de uma saponificação parcial do óleo neutro;

b) substituição do etanol aquoso a 50% por metanol aquoso a 50%, o que reduz o número de extrações e de lavagens do óleo.

A descrição do método modificado é apresentada a seguir:

## Reagentes e equipamento

1. Solução de carbonato de potássio obtida pela dissolução de 40 g de  $K_2CO_3$  anidro em 60 ml de água destilada.
2. Solução aquosa de metanol a 50% por volume.
3. Éter de petróleo, ponto de ebulição 40-60°C.
4. Dois funis de separação de 250-500 ml ou dois frascos com sifão (Fig. 1).
5. Provetas.

## Processo

a) Pesa-se cerca de 10 g de óleo numa balança analítica, transferindo-os ao primeiro funil de separação com 75 ml de éter de petróleo. Adicionam-se 10 ml de  $K_2CO_3$ , agita-se enérgicamente a mistura durante 3 minutos e, a seguir, adicionam-se 50 ml de solução de metanol, seguida de uma ligeira agitação rotatória. Após a separação das fases, transfere-se a camada inferior ao segundo funil de separação. A haste do primeiro funil é lavada com um pouco de éter de petróleo e o produto dessa lavagem é adicionado ao segundo funil. A solução metanólica de sabão do segundo funil é agitada suavemente com outra porção de 75 ml de éter de petróleo, enquanto que a camada inferior é separada e descartada. Ao mesmo tempo, a camada de éter de petróleo no primeiro funil é agitada suavemente com uma nova porção de 50 ml de uma solução de metanol. Após a separação, a mesma solução de metanol é usada para lavar a camada de éter de petróleo no segundo funil e depois descartada. Juntam-se ambas as soluções etéreas, evapora-se o solvente e o óleo recuperado é secado a vácuo em banho-maria e depois pesado.

b) Se fôr preferido o emprêgo de frascos com o dispositivo de sifão, as quantidades de óleo e de reagentes permanecem as mesmas, porém o óleo é pesado no primeiro frasco e ali dissolvido com éter

de petróleo. Após a adição da solução de  $K_2CO_3$  e de metanol aquoso, a camada de éter de petróleo é sifonada ao segundo frasco. Aqui, é lavado com uma nova porção de metanol aquoso e sifonado ao frasco de evaporação. A solução metanólica de sabão no primeiro frasco é extraída com nova porção de éter

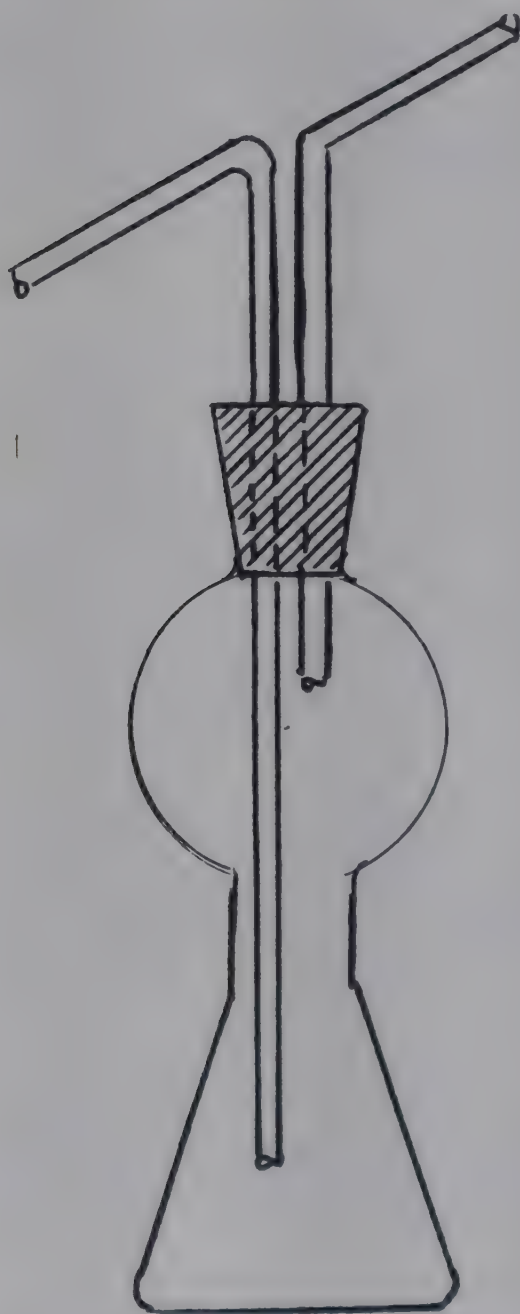


Figura 1.



Quadro 1.

Óleo	FFA *	Perda de pêso		
		Método Wesson		Método cromatográfico
		Original	Modificado	
	%	%	%	%
Algodão A	7,08	11,30	11,09	10,60
Algodão B	4,20	5,07	5,05	5,32
Algodão C	5,03	8,01	7,78	7,55
Soja	0,88	1,07	1,11	1,28
Milho	3,52	5,27	5,12	5,22

\* Determinado por titulação e expresso como % de ácido oléico.

Quadro 2.

Óleo	FFA *	Perda de pêso		
		Método Wesson		Método cromatográfico
		Original	Modificado	
	%	%	%	%
Amendoim 1	3,07	3,72	3,68	3,79
Amendoim 2	2,56	3,20	3,32	3,76
Amendoim 3	2,01	2,30	2,51	2,59
Amendoim 4	2,39	3,01	3,10	3,20
Amendoim 5	2,02	2,85	2,82	3,02
Amendoim 6	2,32	3,10	3,01	3,12
Amendoim 7	2,68	3,15	3,21	3,45
Amendoim 8	2,50	3,08	3,25	3,30

\* Determinado por titulação e expresso como % de ácido oléico.

de petróleo, o qual é então sifonado ao segundo frasco, agitado com o metanol aquoso anteriormente usado e sifonado ao frasco de evaporação. O frasco mostrado na Fig. 1 é obtido pela junção de um frasco cônico de 100 ml, adequadamente cortado, com um frasco de fundo chato ou arredondado de 100 ml. É preferível a um frasco cilíndrico, pois torna possível uma melhor separação das camadas.

Os resultados comparativos obtidos no Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, com o emprêgo do método original de Wesson, o método modificado e o método cromatográfico, acham-se indicados no Quadro 1. Aquêles obtidos num laboratório industrial estão indicados no Quadro 2.

A reprodutibilidade do método de Wesson modificado é de  $\pm 0,1\%$ , portanto, semelhante ao método original. Como há diferenças entre as perdas nos métodos Wesson e cromatográfico, parece que nenhum dos dois fornece resultados absolutos. Por outro lado, a modificação sugerida torna possível uma estimativa razoável das perdas de refinação de óleos em menor tempo e menos trabalho do que os dois métodos padrões.

## LITERATURA

1. JAMIESON, G.S. In Vegetable fats and oils. Reinhold Publishings Corporation, N. York, 2nd ed., p. 454, 1943.
2. Official Methods on American Oil Chemists Society. Ca 9f-57, 1964.

## VELOCIDADES DE LIOFILIZAÇÃO EM SISTEMAS FLUIDOS CONCENTRADOS

Dietrich G. Quast  
Marcus Karel

### RESUMO

No presente trabalho foram estudados os efeitos da composição, velocidade de congelamento e pressão sobre a permeabilidade de sistemas liofilizados.

Constatou-se que a permeabilidade de amostras de café num sistema modelo congelado lentamente é mais alta do que para amostras congeladas rapidamente. Observou-se uma crosta superficial de baixa permeabilidade em todas as amostras congeladas sem agitação.

Houve correlação entre os valores da permeabilidade obtidos em condições de velocidade constante e durante a liofilização. A análise matemática, baseada na hipótese de uma camada seca uniforme e de propriedades constantes, foi mais correta para amostras congeladas com agitação do que para aquelas congeladas sem agitação.

### SUMMARY

**FREEZE-DRYING RATES IN CONCENTRATED FLUID SYSTEMS.** Effects of composition, freezing rates, and pressure on dry layer permeability of freeze-dried liquids were studied. Permeability was found to be higher for slowly frozen samples of coffee and of a model system, than for rapidly frozen samples. A surface layer of very low permeability was observed in all samples frozen without agitation.



*Permeabilities obtained in steady state measurements were found to correlate with permeabilities calculated from freeze-drying rates. A mathematical analysis based on the assumption of a uniform dry layer with constant properties was found to apply better to slush frozen samples than to samples frozen without agitation.*

## INTRODUÇÃO

A liofilização é consideravelmente mais cara que o "Spray drying", por unidade de peso de água removida. O seu alto custo deve-se ao dispendioso investimento em equipamentos e ao elevado consumo de energia. De modo geral, pode-se afirmar que a transferência de calor à interfase de sublimação e a transferência de massa dessa interfase para o condensador são os fatores que limitam a velocidade de secagem. A compreensão da natureza desses fenômenos é essencial para o estudo de novos equipamentos e processos.

Um dos primeiros e mais compreensíveis estudos da liofilização de alimentos foi feito por HARPER e TABBEL (5). Eles verificaram que, a uma determinada temperatura, a permeabilidade é praticamente independente da pressão no condensador, se esta não ultrapassar de 1 mmHg. Sugeriram, também, que em alimentos fluidos, a permeabilidade é uma função da velocidade de congelamento. Observaram, ainda, que na liofilização por radiação colocando-se o quadrado da perda fracional de peso e o tempo em coordenadas retangulares, obtém-se uma linha reta com intersecção do eixo do tempo em uma hora.

GREAVES (3) observou que extratos de café de alta concentração apresentavam pontos eutéticos a temperaturas mais baixas do que a soluções diluídas. MINK e SACHSEL (10) efetuaram um estudo matemático da transferência de calor e de massa em aquecimento por condução e radiação. Desenvolveram uma fórmula empí-

rica para calcular o tempo de secagem, em um processo no qual foram usadas bandejas com pinos metálicos que se prolongavam para o interior do produto, de modo a oferecer melhor transferência de calor.

LAMBERT e MARSHALL (6) fizeram um estudo compreensivo sobre a transferência de calor e de massa durante a liofilização de diversos produtos. Calcularam, também, a permeabilidade de diversos materiais liofilizados, observando a formação de uma camada superficial de alta resistência à transferência de vapor.

Essa resistência aumentava com o teor de sólidos da amostra. Surpreendentemente, a permeabilidade decresceu durante a fase inicial e cresceu durante a fase final de secagem de leite desengordurado. Para esse produto, a velocidade de congelamento teve pouca influência sobre a permeabilidade, mas numa amostra em que a superfície foi raspada apresentou permeabilidade significativamente mais alta. Também o teor de sólidos do material removido da superfície foi aproximadamente o dobro do teor médio de sólidos da amostra. Os autores observaram que, geralmente, a metade da água removida em um período constante de secagem e o teor crítico de umidade era uma função da geometria da amostra, da velocidade de secagem e da natureza da amostra.

LUYET (7) reconheceu a importância da velocidade de congelamento na liofilização subsequente. Realizou estudos microscópicos da amostra congelada e seca, das mudanças que ocorrem durante a liofilização e do mecanismo de reidratação. Recentemente, MACKENZIE (8), fez um estudo exaustivo dos diferentes mecanismos de congelamento e liofilização. Observou que cada sistema possui uma temperatura característica, acima da qual a liofilização não é possível sem o colapso da estrutura. Essa temperatura era, geralmente, bem mais baixa que a temperatura eutética, sendo semelhante, porém, à temperatura crítica de recristalização. REY (11), observou que o congelamento rápido resultava na formação de cristais pequenos e de produ-



tos de alta qualidade. O congelamento extremamente rápido provocava o trincamento do produto.

MACKENZIE e LUYET (9) observaram que uma solução de 30% de gelatina, congelada rapidamente, era liofilizada mais rapidamente, após recristalização. Isso confirma a observação de diversos autores de que cristais grandes de água, resultam em maiores velocidades de secagem. Esses autores também observaram que ocorria maior contração nas amostras não recristalizadas. BURKE e DECAREAU (1) também observaram um período de velocidade constante de secagem, seguido de um período em que a velocidade era reduzida gradativamente.

HARDIN (4) fez uma análise matemática do processo de liofilização. Achou que, teoricamente, os tempos de secagem a 0,5 ou 2,0 mmHg de pressão no condensador não deveriam diferir, significativamente. Na prática, entretanto, o tempo de secagem a 2 mmHg foi consideravelmente mais demorado. Hardin também mediu o perfil de pressão, dentro da camada seca, durante o processo de liofilização. DYER (2) igualmente estudou as correlações matemáticas que regem o processo de liofilização. Observando que a  $-20^{\circ}\text{C}$ , a carne apresentava pressão de vapor de água de 0,5 mmHg, enquanto que a pressão do gelo, a esta temperatura, era de 0,7 mmHg.

### CÁLCULOS

O transporte de vapor de água através de um material poroso ocorre por fluxo hidrodinâmico e por difusão, sendo que o primeiro se dá quando há uma diferença de pressão total entre um e outro lado da camada porosa. A difusão ocorre quando há uma diferença nas pressões parciais dos componentes. Nesse caso, a expressão que representa bem o fenômeno é a lei de Fick, seguinte:

$$\frac{1}{A} \cdot \frac{dw}{dt} = \frac{D}{x} \cdot (C_1 - C_2) \quad (1)$$



A concentração também pode ser dada pela pressão parcial através da lei de Henry:

$$C = S.p \quad (2)$$

Substituindo-se o valor de C obtido em (2) na equação (1), tem-se:  $\Rightarrow$

$$\frac{1}{A} \cdot \frac{dw}{dt} = \frac{DS}{X} \cdot (p_1 - p_2) \quad (3)$$

$$\text{Por definição, } DS = b \quad (4)$$

Então:

$$\frac{1}{A} \cdot \frac{dw}{dt} = \frac{b}{X} \cdot (p_1 - p_2) \quad (5)$$

Este tratamento é bastante exato, quando se trata de gases ideais, em que S e S independem da concentração, e a transferência de massa é apenas por difusão.

Na prática, entretanto, a equação (5) tem sido usada extensivamente para analisar o processo de liofilização.

Neste caso, esta equação se torna praticamente uma equação empírica, que representa o fenômeno satisfatoriamente. A constante b, chamada permeabilidade, é a propriedade de transporte que caracteriza um material quanto à transferência de massa.

A equação (5) também pode ser escrita da seguinte maneira:

$$\frac{1}{A} \cdot \frac{dw}{dt} = \frac{(p_1 - p_2)}{\frac{X}{b}} \quad (6)$$

na qual, o numerador representa a diferença de pressões parciais que provoca a transferência de massa e o denominador a resistência à transferência de massa.

Se um material plano é liofilizado por radiação, o calor deve ser transferido à interfase de sublimação através da camada seca formada. O vapor formado é, por sua vez, transferido por essa camada seca para o condensador ou à bomba. Esses fenômenos são dados pelas equações (7) e (8) abaixo:

$$\frac{1}{A} \cdot q = \frac{k_d}{X_d} \cdot (T_s - T_i) \quad (7)$$

$$\frac{1}{A} \cdot \frac{dw}{dt} = \frac{b}{X_d} \cdot (p_i - p_s) \quad (8)$$

mas,  $q = \frac{dw}{dt} \cdot \Delta H_s$  (9)

Substituindo-se (9) em (8) e equacionando-se (8) com (7), obtêm-se:

$$k_d (T_s - T_i) = b \cdot (p_i - p_s) \cdot \Delta H_s \quad (10)$$

$$(T_s - T_i) = b \cdot \frac{\Delta H_s}{k_d} (p_i - p_s) \quad (11)$$

O termo  $\frac{b \cdot \Delta H_s}{k_d}$  é uma constante para um de-

terminado produto e, portanto, é equação de uma reta (11). A função

$$p_i = f(T_i) \quad (12)$$

pode ser obtida em tabelas.

Resolvendo (11) e (12) gráficamente, obtém-se a temperatura na interfase a qual é constante durante todo o processo de secagem e é apenas uma função das características físicas do material liofilizado.

No caso de transferência de calor pela camada de material ainda congelado, este processo é acelerado pela alta condutibilidade térmica  $k_f$  do material congelado, mas é reduzida pela pequena diferença de temperatura entre a bandeja e a interfase de sublimação. A transferência de massa ocorre, como no aquecimento por radiação, através da camada seca.

Matematicamente, o processo pode ser representado por

$$\frac{1}{A} \cdot q = \frac{k_f (T_d - T_i)}{X_f} = \frac{b (p_i - p_s)}{X_d} \cdot \Delta H_s \quad (13)$$

Nesse caso, os termos que representam as espessuras não são cancelados, concluindo-se daí, que a temperatura na interfase não é constante, sendo também uma função da espessura da camada seca. Entretanto, se a condutibilidade térmica  $k_f$  do material congelado é alta e a permeabilidade da camada seca diminui, o termo  $(T_d - T_i)$  torna-se pequeno e  $T_i$  pode ser considerado igual a  $T_d$ . Então, o principal fator limitante na secagem é a transferência de massa.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Determinação direta da permeabilidade

Para a determinação direta da permeabilidade, as suspensões foram desaeradas em cilindros de vidro de 25 mm de diâmetro e 20 mm de altura, colados a uma lâmina plana de alumínio.



Foram utilizadas as seguintes velocidades de congelamento:

- a) Congelamento muito lento - congelamento por convecção natural a  $-5^{\circ}\text{C}$ ;
- b) Congelamento lento - convecção natural a  $-20^{\circ}\text{C}$ ;
- c) Congelamento rápido - congelamento a  $-40^{\circ}\text{C}$ , com circulação forçada do ar;
- d) Congelamento ultra-rápido - imersão da base do cilindro em nitrogênio líquido;
- e) Congelamento com agitação - a  $-20^{\circ}\text{C}$ , com agitação manual intermitente, transferência da massa para a fôrma e congelamento final a  $-40^{\circ}\text{C}$ .

A imersão da amostra líquida em nitrogênio líquido resultava em um cilindro com rachaduras e sem resistência mecânica. Após o congelamento, as amostras foram liofilizadas a uma temperatura de superfície de  $-25^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, a temperatura foi elevada para  $+20^{\circ}\text{C}$  para remover a água adsorvida. Os cilindros de amostras sofreram uma contração de 1 mm no diâmetro, o que facilitava a sua remoção da fôrma. A área da secção transversal era de  $4,90\text{ cm}^2$  e a altura variava entre 10 a 18 mm.

As amostras de café (soluções aquosas de 20 a 30% em peso) e de um sistema modelo (10% de glicose, 10% de celulose microcristalina e 2% de amido de batata) apresentaram resistência mecânica suficiente para manuseio, sem quebrá-las.

Para a determinação da permeabilidade, a superfície lateral do cilindro da amostra foi coberta com fita plástica. O novo cilindro assim formado foi adaptado ao suporte da amostra, como indicado na Figura 1. Este suporte foi introduzido no liofilizador

experimental de tal maneira que o material liofilizado ficava entre o gelo, a uma temperatura constante na câmara, e o condensador refrigerado com nitrogênio líquido. O liofilizador experimental está representado na Figura 2. Na fase inicial, alguma umidade era adsorvida na amostra, o que causava, inclusive, uma elevação da sua temperatura. Após 100 minutos, um perfil constante de umidade havia se formado dentro da amostra e a transferência de vapor de água através desta ocorria em velocidade constante. Esta velocidade foi calculada por pesagem do condensador antes e depois de um período de tempo  $t$ , e a permeabilidade foi calculada por uma equação semelhante a (8), seguinte:

$$b = \frac{X_d}{A \left[ \frac{(p_1 - p_2)}{w/t} - R_p \right]} \tag{14}$$

O termo  $R_p$  é uma correção para a resistência à transferência de massa devida à tubulação e ao sistema em geral sem a amostra.

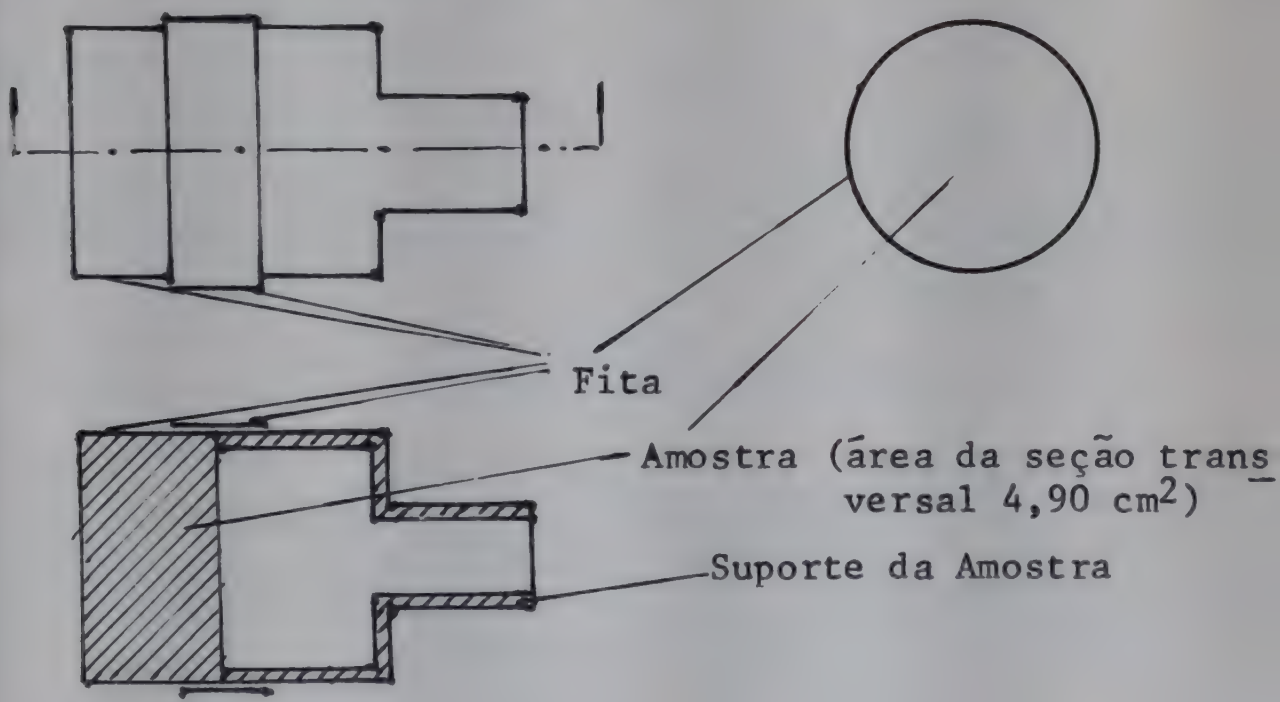
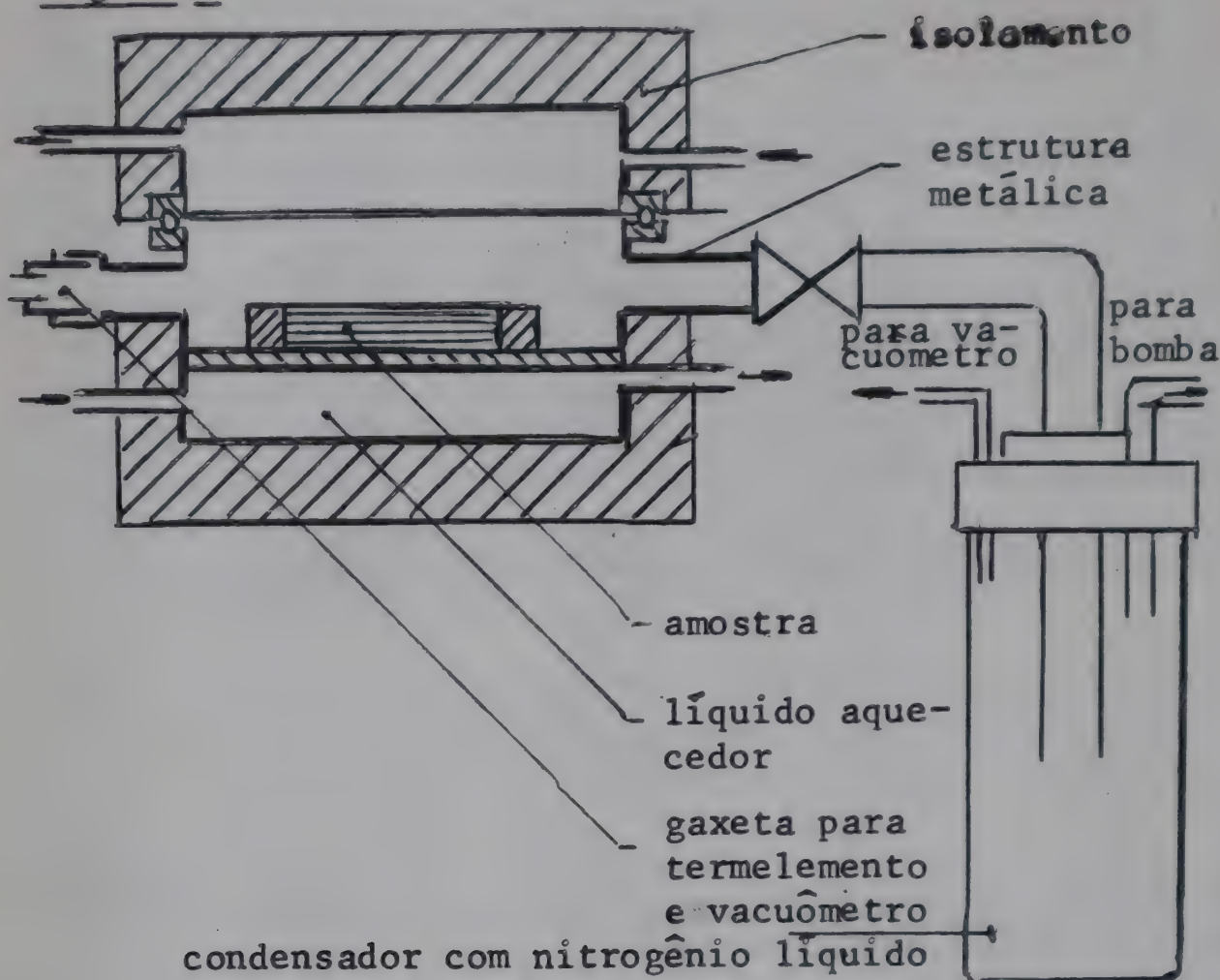


Figura 1.



Figura 2.



Após uma determinação, o suporte da amostra podia ser removido da câmara de liofilização. Assim, a crosta superior da amostra (0,5 a 1 mm) podia ser removida e nova determinação ser efetuada. A estrutura macroscópica do material seco foi observada após a última determinação.

### Velocidade de liofilização

Utilizou-se, para esse estudo, o mesmo liofilizador experimental. Nesse caso, a amostra foi congelada em um recipiente cilíndrico com  $45,3 \text{ cm}^2$  de seção transversal e 1,2 cm de altura, com parede de Lucite (\*) e fundo plano de latão.

A espessura das amostras variou entre 0,9 e 1,2 cm e os pares termelétricos foram colocados em diferentes pontos da amostra. O calor foi transferido

Marca registrada de plástico da DuPont.



por condução pelo fundo de latão e a camada congelada para a interfase de sublimação. O peso da água removida podia ser determinado, a qualquer momento, pela pesagem do condensador. Por diferenciação gráfica, calculava-se a velocidade instantânea de secagem.

A espessura da camada seca foi calculada a partir do peso da água removida, segundo a equação:

$$X_d = \frac{w}{\rho \cdot X_{H_2O} \cdot A} \quad (15)$$

Assim, a permeabilidade durante a liofilização podia ser calculada pela equação:

$$b = \frac{X_d}{A \left[ \frac{(p_i - p_s)}{dw / dt} - R_p \right]} \quad (16)$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Determinação direta da permeabilidade

Alguns dos resultados são mostrados nas Figuras 3 e 4. Durante o congelamento sem agitação, forma-se uma camada na superfície superior do líquido em que a concentração de sólidos é mais elevada que a média da amostra. Isso se deve, principalmente, à migração de sólidos à superfície, em consequência do congelamento de água na parte inferior da amostra.

O estudo da resistência à transferência de massa, causada por essa camada, revelou que ela correspondia a 0,3 a 1,4 cm da camada seca normal. O valor dessa resistência não podia ser correlacionado com o processo de congelamento, exceto no caso de congelamento com agitação, em que a resistência era pequena.

A umidade média da amostra de café após a determinação da permeabilidade foi de 0,05 g H<sub>2</sub>O/g sólidos. A altura do cilindro da amostra podia ser determinada com uma precisão de 0,5 mm. Isso constitui uma

Figura 3.

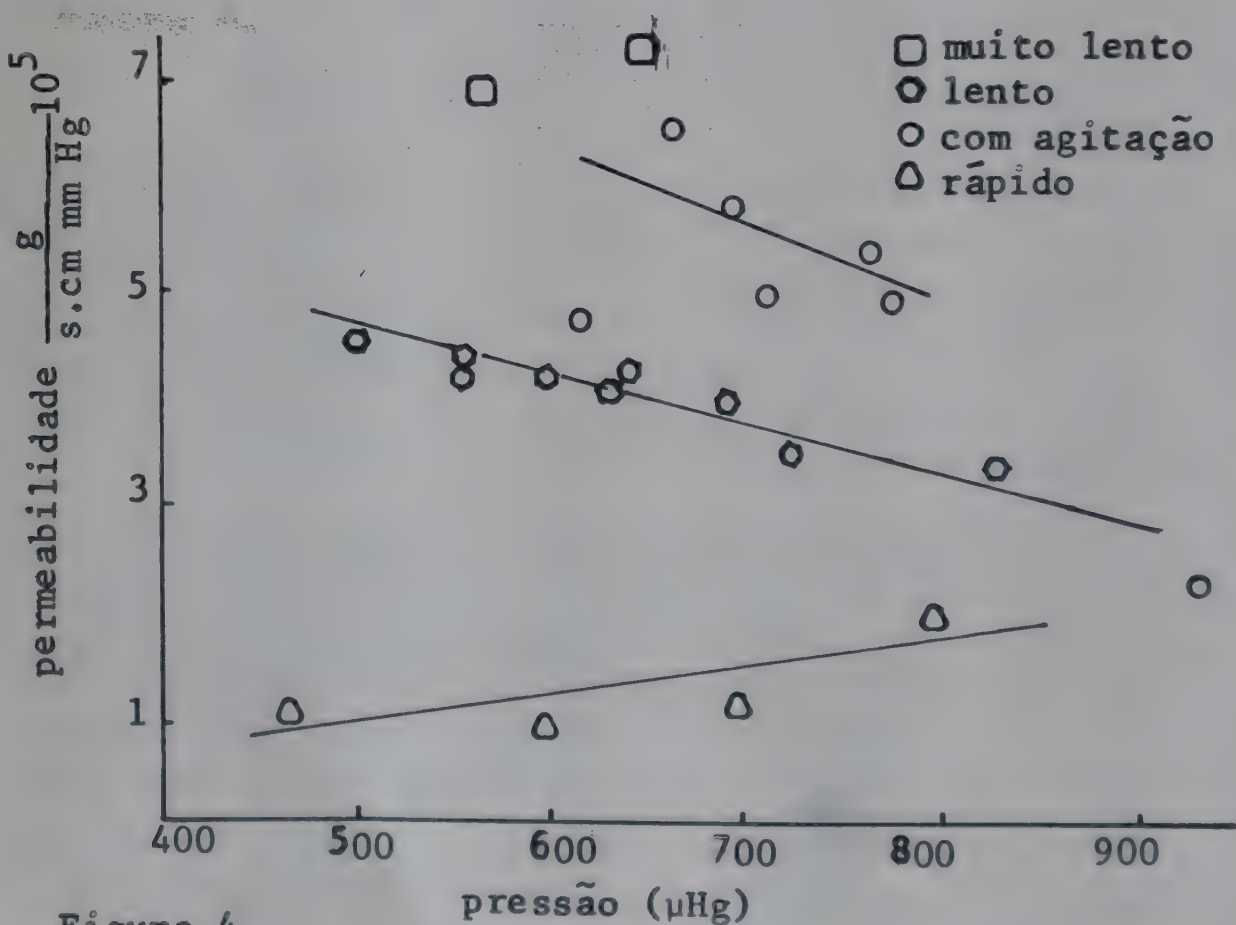
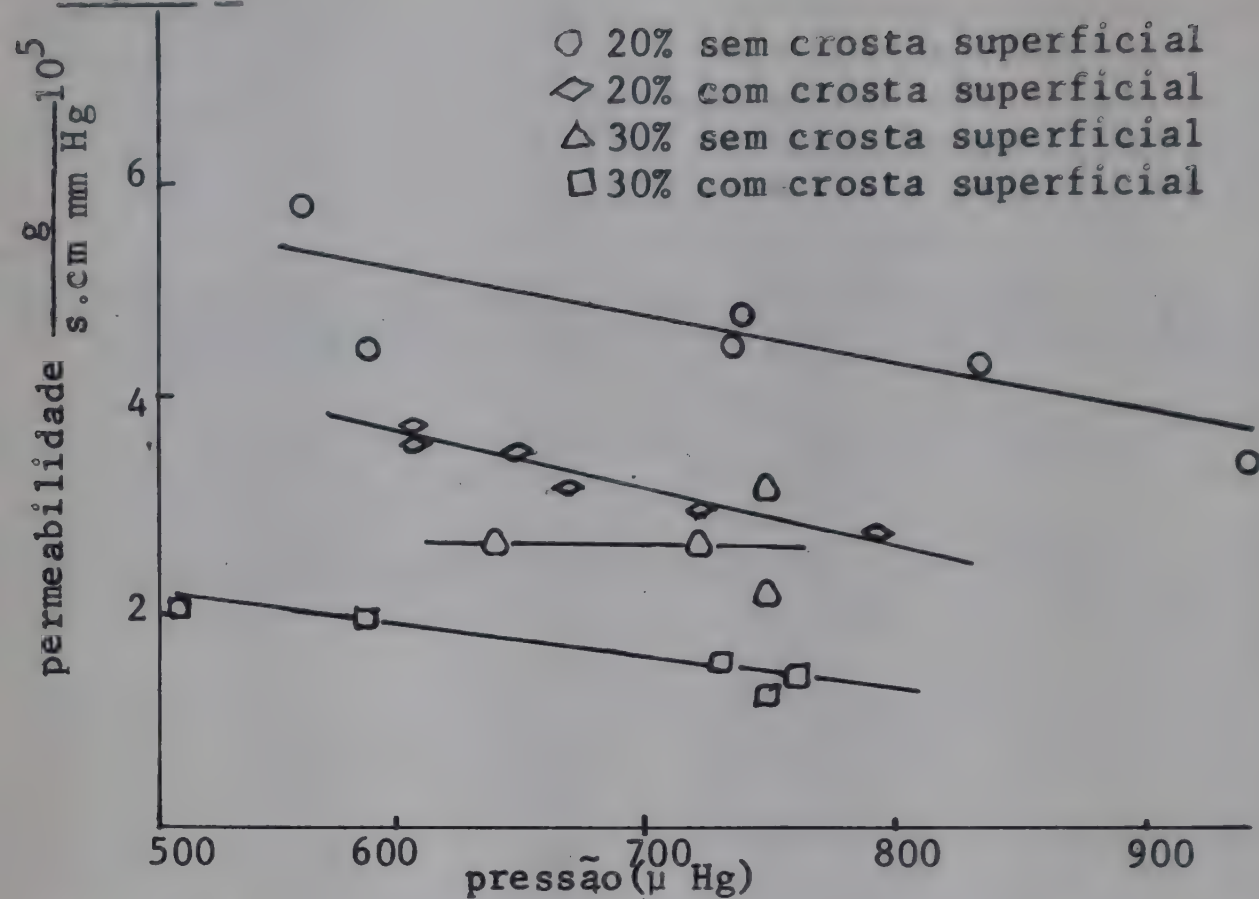


Figura 4.



das maiores fontes de erro no cálculo da permeabilidade. Uma análise da propagação do erro, incluindo as outras variáveis na equação (14), revelou que o erro provável no valor da permeabilidade era  $\pm 0,5 \times 10^{-5}$  g/s . cm . mmHg.

Nas Figuras 3 e 4, observa-se a fraca dependência da permeabilidade da pressão no condensador na faixa de 0,1 a 0,8 mmHg. Isto confirma as observações anteriores por HARPER & TAPPEL (5) e DYER (2).

Os resultados também indicam, claramente, que a permeabilidade é afetada pelo processo de congelamento. O congelamento com agitação foi um processo lento, mas resultou em permeabilidade mais alta.

Isto pode ser explicado, em parte, pela ausência quase completa da crosta superficial de alta resistência à transferência de vapor. O congelamento rápido resulta em cristais pequenos de água e baixa permeabilidade; o muito lento provoca formação de cristais e em feixes, verdadeiros tubos da camada liofilizada. A permeabilidade é a mais alta.

A influência do congelamento sobre o processo de secagem já havia sido reconhecido por LUYET (7) e outros autores.

LAMBERT e MARSHALL (6) acharam pouco efeito da velocidade de congelamento sobre a velocidade de liofilização em leite desnatado.

### Velocidade de liofilização

O processo da liofilização foi analisado graficamente por coordenadas retangulares, em que a permeabilidade aparente foi locada em ordenadas e a espessura (calculada) da camada seca em abcissas. Nas Figuras 5 e 6, observa-se que para o café a 20% e para o modelo, o congelamento com agitação resultou em permeabilidade significativamente mais elevada que o congelamento lento sem agitação. Um fator importante, é



a permeabilidade aparente inicial mais elevada para as amostras congeladas com agitação, devido à ausência da camada superior de baixa permeabilidade. A remoção dessa camada, resultou em permeabilidade inicial elevada e maior velocidade de secagem durante o período. Isto confirma uma observação anterior feita por LAMBERT e MARSHALL (1962).

Entretanto, esses autores acharam alta permeabilidade aparente inicial, que diminui durante o processo. Isso é contrário aos resultados apresentados neste trabalho. A forma das curvas obtidas pode ser explicada pela fração elevada da resistência superficial durante o período inicial de secagem. Posteriormente, a camada seca aumenta e é responsável pela maior parte da resistência à transferência de massa, resultando disso a mais alta permeabilidade aparente. Na fase final, a permeabilidade decresce devido a fatores secundários, como redução da transferência de calor, secagem irregular e outros.

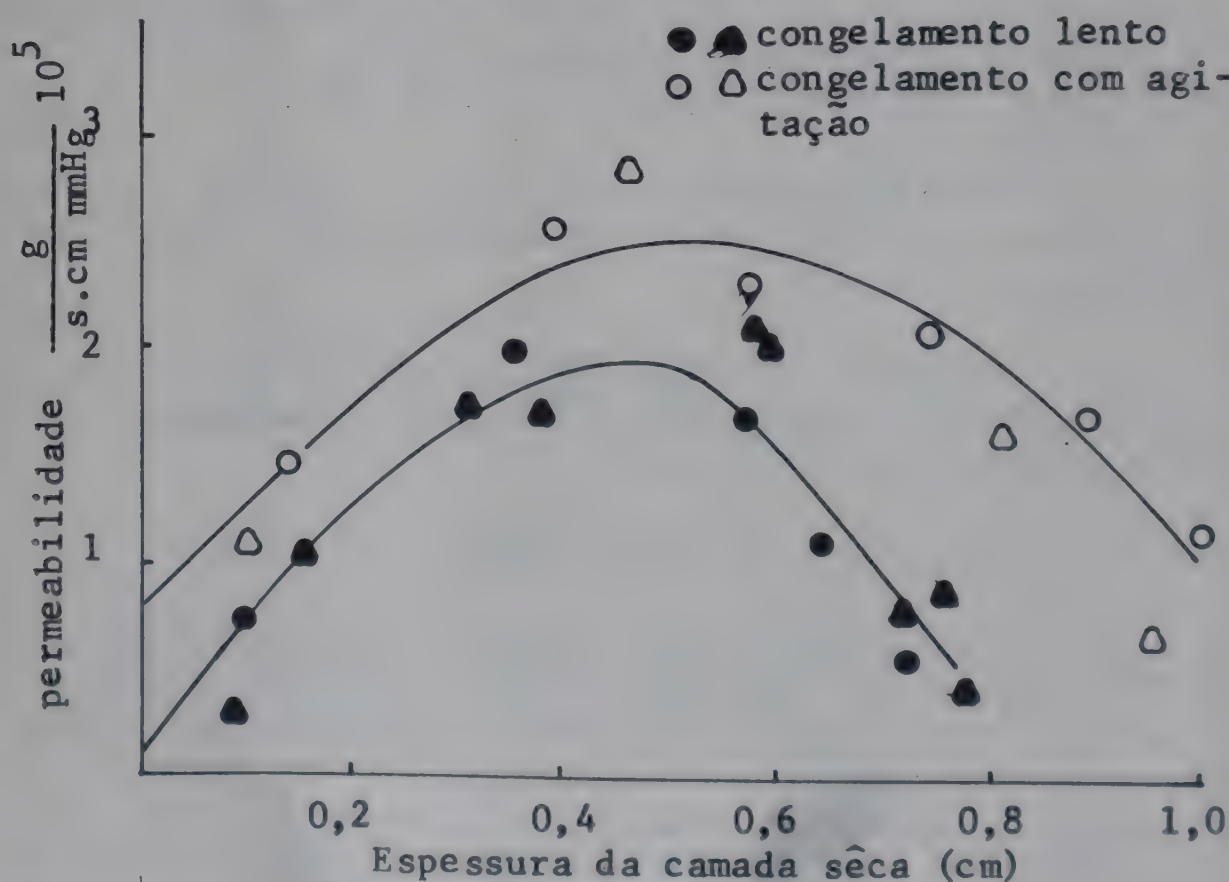
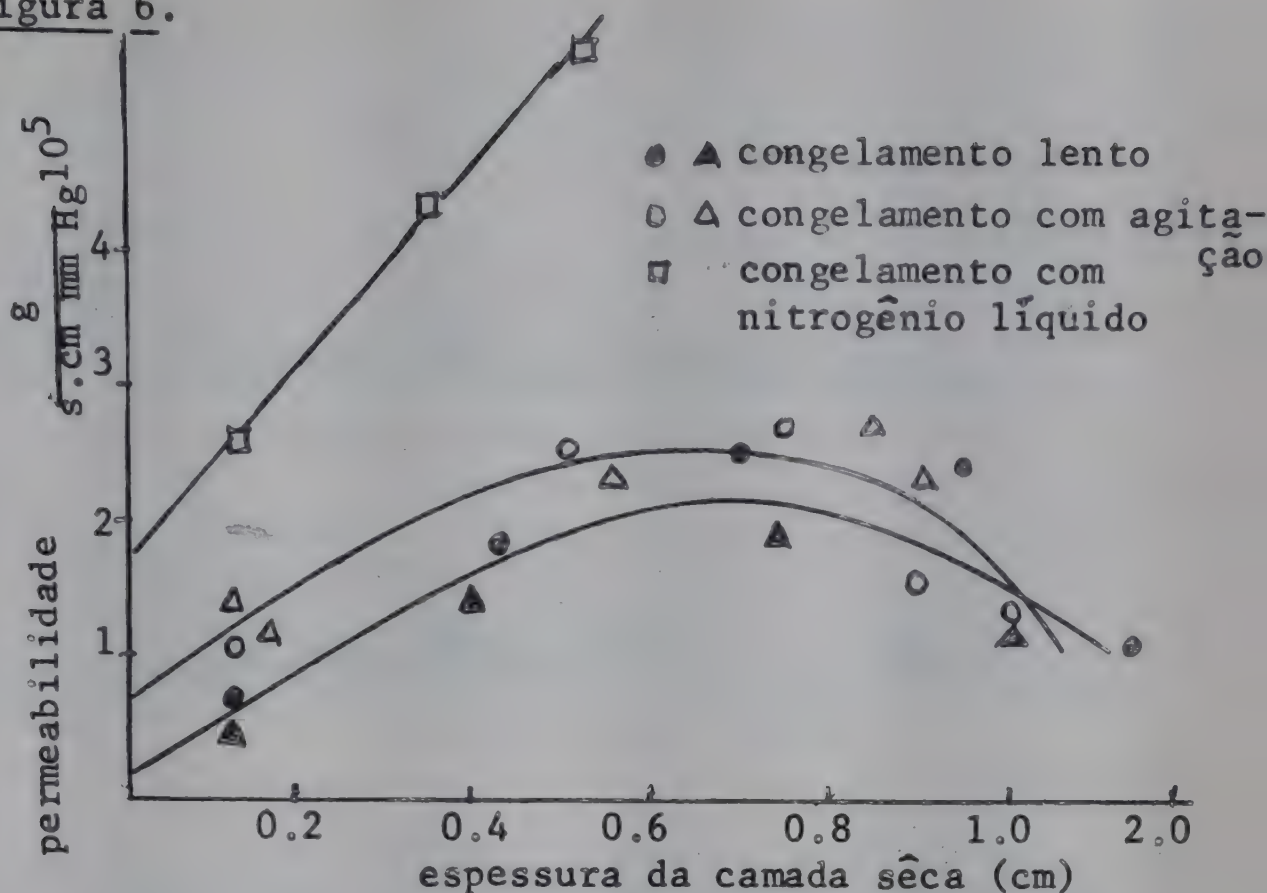


Figura 5.

Figura 6.



Por isso, o gráfico só representa a realidade até a espessura de 0,7 cm. Um fator interessante é a irregularidade do gráfico na Figura 6, para a amostra congelada com nitrogênio líquido. Nesse caso, a amostra apresenta grande número de rachaduras e, em consequência disto, a secagem é rápida, não obstante o congelamento rápido. Então, a permeabilidade não pode ser utilizada para uma análise matemática de um modelo em que a interfase de sublimação retrocede paralelamente à superfície superior.

A Figura 7 mostra como a camada congelada retrocede durante o processo de liofilização. A interfase bastante irregular para a amostra congelada lentamente, é uma consequência das diferentes velocidades de congelamento nos diferentes pontos da amostra. Assim, a amostra congela mais lentamente no centro, resultando permeabilidade local mais elevada. As amostras congeladas com agitação apresentam textura uniforme e a camada congelada regride uniformemente. Durante a seleção de um sistema modelo, foram estuda-



das diversas composições, e observou-se que uma solução 20% de sacarose não podia ser liofilizada a  $-20^{\circ}\text{C}$ , temperatura esta bem inferior à temperatura eutética. Observações semelhantes foram feitas por Mackenzie (8).



Congelamento com agitação



Congelamento lento



Congelamento com  $\text{N}_2$  líquido

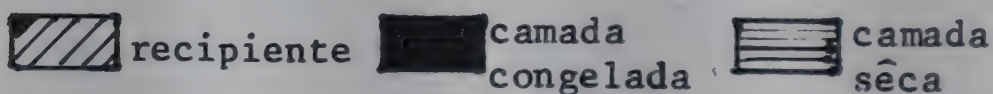


Figura 7.

No presente estudo, a adição de celulose microcristalina e amido de batata gelatinizado estabilizou a estrutura, possibilitando uma liofilização a temperaturas mais altas.

Soluções a 20% de café podiam ser liofilizadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , sem perda de estrutura, mas soluções a 40% ainda perdiam a estrutura a  $-25^{\circ}\text{C}$ . A composição dos solutos foi a mesma em ambos os casos. Isto indica que muitas soluções concentradas possuem uma temperatura eutética aparente, que é uma função da concentração. Este fato foi constatado anteriormente por Greaves (3).



Durante o congelamento sem agitação, os solutos geralmente se concentram na superfície superior resultando disso a mais baixa permeabilidade desta camada.

Em amostras que apresentavam camada superficial de baixa permeabilidade foi observado um período de secagem a velocidade constante, seguido de um período em que a velocidade diminuía. Este fato levou diversos autores, inclusive BURKE e DECAREAU (1), a analisarem o processo nos moldes da análise clássica para secagem comum. Neste trabalho, ficou provado que o período de secagem à velocidade constante pode ser uma consequência da resistência superficial. DYER (2) mostrou que uma camada de alta resistência à transferência de vapor se formava inclusive na carne.

Diversos solventes orgânicos insolúveis e parcialmente solúveis foram adicionados às soluções de café antes do congelamento. O benzeno reduziu a resistência superficial aumentando a velocidade de secagem. Entretanto, a remoção mecânica da camada superficial foi mais eficaz.

A secagem parcial, a partir das paredes laterais e mesmo do fundo, foi um dos problemas frequentemente encontrado. Provavelmente, o contacto térmico imperfeito do produto com o fundo da bandeja, será uma das maiores limitações ao uso da transferência de calor por condução em processos industriais.

No Quadro 1 são mostrados alguns valores representativos da permeabilidade, obtidos pelo método direto e durante a liofilização. No método direto, as determinações foram feitas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , ao passo que no outro processo a  $-25^{\circ}\text{C}$ . Essa diferença de temperatura poderia ser parcialmente responsável pelas diferenças nos valores da permeabilidade. A pressão de vapor na interfase foi obtida a partir da temperatura para gelo

puro. DYER (2) demonstrou que os solutos presentes baixam a pressão de vapor da mistura. Esse fato também pode explicar as diferenças observadas para os valores da permeabilidade pelos dois métodos.

Quadro 1. Permeabilidade de sistemas liofilizados.

Tratamento	Determinação direta	Permeabilidade
		$\frac{\text{g}}{\text{cm} \cdot \text{s} \cdot \text{mmHg}} \times 10^5$ máxima durante a liofilização
Cafê, congelamento lento	4,0	2,0
Cafê, congelamento com agitação	6,5	2,8
Modêlo, congelamento	-	2,0
Modêlo, congelamento com agitação	3,4	2,6

Composição do modêlo: 10% glicose.  
10% celulose microcristalina.  
2% amido de batata.

### CONCLUSÕES

1. O congelamento lento de sistemas fluidos resulta em cristais maiores, permeabilidade mais alta e, conseqüentemente, velocidade de liofilização mais elevada.



2. Se o congelamento lento é feito a partir da parte inferior da bandeja, os solutos se concentram na camada superior formando uma película de resistência à transferência de massa, equivalente de 0,3 a 1,4 cm da camada seca normal. Esta película também se pode formar como consequência de fusão local, resultando em baixa velocidade de liofilização.
3. O congelamento com agitação ou remoção mecânica da película superior reduz a resistência superficial.
4. O modelo matemático proposto para a análise do processo de liofilização só pode ser aplicado aos sistemas congelados com agitação.
5. A maioria dos sistemas fluidos possui uma temperatura eutética aparente acima da qual não é possível liofilizar o produto sem perda da estrutura. Essa temperatura é uma função da concentração e também pode ser alterada pela adição de substâncias hidrófilas. É de se esperar que o café extraído a altas temperaturas possua pontos eutéticos à temperatura mais alta que o extraído à baixa temperatura.

### SÍMBOLOS EMPREGADOS

<u>Símbolos</u>		<u>Unidades típicas</u>
A	área	$\text{cm}^2$
b	permeabilidade	$\frac{\text{g}}{\text{s} \cdot \text{cm} \cdot \text{mmHg}}$
c	concentração	$\text{g/cm}^3$
D	difusibilidade molecular	$\frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$
$\Delta H_s$	calor latente de sublimação	$\frac{\text{cal}}{\text{g}}$

(continua)



(continuação)

$k_d$	condutibilidade térmica da camada seca	$\frac{\text{cal}}{\text{cm.s.}^{\circ}\text{C}}$
$k_f$	condutibilidade térmica da camada congelada	$\frac{\text{cal}}{\text{cm.s.}^{\circ}\text{C}}$
$p$	pressão parcial	mmHg
$p_1$	pressão parcial do vapor de água no lado de alta pressão	mmHg
$p_2$	pressão parcial do vapor de água no lado de baixa pressão	mmHg
$p_i$	pressão parcial do vapor de água na interfase	mmHg
$p_s$	pressão parcial do vapor de água na superfície ou junto ao condensador	mmHg
$q$	fluxo de calor	$\frac{\text{cal}}{\text{s}}$
$R_p$	resistência ao fluxo de massa devida ao sistema	$\frac{\text{s.mmHg}}{\text{g}}$
$S$	constante de Henry	$\frac{\text{g}}{\text{cm}^3.\text{mmHg}}$
$T_i$	temperatura na interfase	$^{\circ}\text{C}$
$T_d$	temperatura na superfície de aquecimento	$^{\circ}\text{C}$
$t$	tempo	s
$\Delta t$	intervalo de tempo	s
$w$	massa	g

(continua)

(continuação)

$\Delta w$	ganho ou perda de massa	g
$X_d$	espessura da camada sêca	cm
$X_f$	espessura da camada congelada	cm
$H_2O$	fração em massa da água	-
$\rho$	massa específica	$\frac{g}{cm^3}$

#### LITERATURA

1. BURKE, R.R. & DECAREAU, R.V. Recent advances in the freeze-drying of food products. Advan. Food Res. 13, 1-89, 1961.
2. DYER, D.F. Transport phenomena in sublimation dehydration. Ph. D. Thesis, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Georgia, 1965.
3. GREAVES, R.I.N. In Freeze-Drying of Foods. Natl. Acad. Sci., Natl. Res. Council, p. 13-16, 1962.
4. HARDIN, T.C. Heat and mass transfer mechanisms in freeze-drying. Ph. D. Thesis, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Georgia, 1965.
5. HARPER, J.C. & TAPPEL, A.L. Freeze-drying of food products. Advan. Food Res. 7, 171-234, 1957.
6. LAMBERT, J.B. & MARSHALL, W.R. In Freeze-Drying of Foods. Natl. Acad. Sci., Natl. Res. Council, p. 105-133, 1962.

7. LUYET, B.J. In Freeze-Drying of foods. Natl.Acad. Sci., Natl. Res. Council, p. 194-211, 1962.
8. MACKENZIE, A.P. Bull. Parental Drug Assoc. 20, 101-129, 1966.
9. \_\_\_\_\_ & LUYET, B.J. Effect of recrystallization upon the velocity of freeze-drying. In Progress in Refrigeration Science and Technology. Pergamon Press, Oxford, vol. 2, p. 1573-1378, 1963.
10. MINK, W.H. & SACHSEL, G.F. Freeze-Drying of Foods. Natl. Acad.Sci. - Natl. Res. Council, pp. 84-92, 1962.
11. REY, L. Basic principles of lyophilization. In Progress in Refrigeration Science and Technology, Pergamon Press, Oxford, vol. 1, p. 67-77, 1963.



## A ATIVIDADE PROTEOLÍTICA NO GÊNERO FICUS \*

Donald C. Williams \*\*

Valdemiro C. Sgarbieri

John R. Whitaker

## RESUMO

Dos látices de um total de 46 espécies de *Ficus* examinadas, apenas 13 continham atividade proteolítica apreciável. Portanto, uma atividade proteolítica elevada no látex não é um caráter distintivo desse gênero. Aquêles de *F. stenocarpa* apresentou a mais alta atividade específica, seguido de perto pelos látices de *F. carica* e *F. glabrata*. Os látices de seis espécies de *Ficus* foram examinados por cromatografia em OM-celulose e comparados com os resultados obtidos de nove variedades de *F. carica*. Verificou-se que todos os látices continham enzimas proteolíticos múltiplos. Cromatograficamente, os componentes dos enzimas múltiplos das diversas variedades de *F. carica* eram mais semelhantes do que aqueles das várias espécies examinadas de *Ficus*. Os látices de 16 variedades de *F. carica* eram todos diferentes quando determinadas pela electroforese de banda livre, embora a sua atividade proteolítica específica fosse razoavelmente constante.

## SUMMARY

PROTEOLYTIC ACTIVITY IN THE GENUS FICUS. The latices of only 13 of a total of 46 species of *Ficus* examined contained appreciable proteolytic activity. Therefore, high proteolytic activity in the latex is not a distinguishing feature of the genus. The latex of *F. stenocarpa* had the highest specific activity followed closely by the latices of *F. carica* and *F. glabrata*.

(\*) Tradução de J. C. Medina. (\*\*) Publicado em Plant. Physiol. 87: 43-1083-1088, 1968.

Latices of six species of *Ficus* were examined by chromatography on OM-cellulose and compared with results obtained for nine varieties of *F. carica*. All of the latices were found to contain multiple proteolytic enzymes. Chromatographically, the multiple enzyme componentes of the several varieties of *F. carica* were more similar than those of the several species examined. The latices of 16 varieties of *F. carica* were all different as determined by free boundary electrophoresis although the specific proteolytic activity of the latices was reasonably constant.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Ficus* pertence à família *Moraceae* e à ordem *Urticales* (4). Esta família compreende árvores e arbustos que têm como característica um suco leitoso. Aquêles das plantas de pelo menos cinco gêneros exibe uma atividade proteolítica alta. Êstes gêneros são: *MacLura* (*M. pomifera* Raf. (12)), (*Morus* (amoreira, *M. nigra* L. (10)), *Brosimum* (castanha pão, *B. alicastrum* (10)), *Broussonetia* (amoreira de papel, *B. papyrifera* (10)), e *Ficus* (figo, várias espécies, (10)).

O gênero *Ficus* abrange mais de 1.300 espécies (3), que se distribuem amplamente pelas regiões tropicais e subtropicais do globo. Formas diversas, tais como o figo comestível comum (*F. carica*), o figo sicamoro (*F. sycamorus*), a árvore "banyan" (*F. indica* e *F. benghalensis*), várias figueiras (diversas espécies, inclusive *F. bomplandiana* e *F. padifolia*), a árvore de borracha (*F. elastica*) e o figo rasteiro (*F. repens*) pertencem a êste gênero. Talvez as únicas características comuns dêste gênero, que inclui cipós, arbustos e árvores, que têm sido relatados diferir em número de cromossomos (6), sejam o látex leitoso e a produção de fruto em algum período da vida da planta. Embora os frutos difiram marcadamente em tamanho, forma, cor, localização na planta e freqüência do aparecimento entre as espécies, são todos sícones.



Talvez outra característica comum ao gênero seja a alta atividade proteolítica do látex. Já foi demonstrado que tanto o *F. glabrata* como o *F. carica* têm uma atividade proteolítica muito alta (5, 11). O presente estudo inclui uma comparação da atividade proteolítica dos látices de 46 espécies de *Ficus* e de 16 variedades de *F. carica*, assim como uma comparação das propriedades eletroforéticas e cromatográficas dos componentes de proteína de várias outras espécies e variedades.

Verificou-se que uma atividade proteolítica alta não é uma característica geral do gênero *Ficus*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Látices. O látex de *F. glabrata* do Peru foi cedido pela Enzyme Development Corporation (lote nº AP/1). O pó de látex de *F. glabrata*, também do Peru, foi presente da Merck & Co. (lote nº 50.567). Todas as demais amostras foram coletadas pessoalmente pelos autores. Os látices das variedades de *F. carica* foram coletados em agosto, da coleção de variedades de Fresno, Califórnia, que é mantida pelo Califórnia Citrus Research Center, Riverside, em cooperação com o United States Department of Agriculture, Fresno. Outra amostra do látex de *F. carica* var. Kadota foi obtida da coleção de variedades de Davis, Califórnia. As restantes amostras foram coletadas em julho, no Jardim Botânico da Universidade da Califórnia, Los Angeles, no arboreto da Universidade da Califórnia, em Riverside, e no Jardim Botânico do Department of Arboreta and Botanic Gardens, de Arcadia, Califórnia. Todas as árvores foram etiquetadas e a validade da identificação foi assegurada por trabalhadores profissionais desses jardins e pelo Prof. Ira Condit, da Universidade da Califórnia, em Riverside.



A coleta foi feita nas extremidades feridas de frutos (em folhas, em alguns casos). As gotículas de látex foram coletadas diretamente em tubos de centrifugação de polietileno, congeladas imediatamente em gelo seco e mantidas no estado congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até que as análises fossem efetuadas. No caso das amostras das variedades de *F. carica* e *F. glabrata* (Enzyme Development Corp.), a goma foi removida por centrifugação a  $100.000 \times g$  durante 20 minutos a  $0^{\circ}$ . Devido à quantidade limitada das amostras, a goma não foi removida dos outros látices.

Reagentes. Preparou-se carboximetil (CM) celulose da celulose em pó de Whatman (peneirada em tamis de 100 "mesh") pelo método de Peterson & Sober (9). Continha 0,49 meq. grupos carboxilos por grama de resina. A caseína, qualidade Hammaraten, provinha da Nutricional Biochemical Corp.; o hidrocloreto de cisteína, da Mann Research Labs., Inc.; e Versene da Eastman Kodak Co,. Todos os outros materiais eram de grau reagente e usou-se, durante todo o trabalho, água desionizada.

Análise de proteína. O conteúdo de proteína das amostras foi determinado pelos métodos biureto (2) e de Lowry (8), ou pela absorvência a 280 m $\mu$ . Usou-se albumina de soro de boi (Armour Pharmaceutical Co., cristalina) como proteína padrão para os dois primeiros métodos.

Atividade enzimica. A atividade proteolítica sobre a caseína foi determinada por uma modificação do método de Kunitz (7), como descrito por Sgarbieri e outros (11). A unidade de atividade é definida com a quantidade que causa uma modificação de 0,001 na absorvência em um minuto a  $35^{\circ}$  e pH 7,0.

Electroforese. A preparação das amostras e a electroforese em um aparelho Perkin-Elmer Tiselius foram como descritas previamente (11). Todas as análises electroforéticas foram feitas pelo menos em duplicata e os modelos de separação eram completamente reproduzíveis.

Cromatografia. O equilíbrio da CM-celulose, o preparo da coluna e a adsorção de proteína na CM-celulose a pH 4,90, antes da adição no topo da coluna, foram como descritos previamente (11). A cromatografia foi levada a efeito seja por um esquema de eluição linear ou em gradiente escalonado. A eluição de gradiente escalonado foi descrita previamente (11). No esquema da eluição de gradiente linear, a coluna foi eluída, inicialmente, com 72 ml de tampão de fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,0. Isto foi seguido pela eluição de gradiente linear. O frasco de mistura continha 700 ml de tampão de fosfato de sódio de 0,01 M, pH 7,0 enquanto que o segundo frasco continha 700 ml de tampão de fosfato de sódio 0,01 M-cloreto de sódio 0,5 M, pH 7,0. Finalmente, a coluna foi eluída em tampão de fosfato de sódio 0,01 M-cloreto de sódio 1,0 M, pH 7,0.

## RESULTADOS

Atividade proteolítica. No Quadro 1 está indicada a atividade proteolítica dos látices de 46 espécies de *Ficus*, a qual variou de 0,01 unidades por ml para *F. roxburghii* e *F. diversifolia* a 636 unidades por ml para *F. stephenocarpa*. Não há correlação entre a atividade proteolítica e o teor de proteína do látex. Por exemplo, o látex de *F. nota* tem 167 mg de proteína e 9,1 unidades de atividade por ml, enquanto que o látex *F. stenocarpa* tem 160 mg de proteína e 373 unidades de atividade por ml. A este respeito indica-se que mais de 90% da proteína do látex de *F. carica* contém atividade proteolítica.

Devido às variações nas práticas culturais e estações do ano, a característica mais definitiva do látex de uma dada espécie é a atividade por mg de proteína (atividade específica). A atividade variou de um máximo de 2,33 para o látex de *F. stenocarpa* a um mínimo de 0,01 para *F. diversifolia*. Os látices de 30 das 46 espécies tinham menos do que 5% da atividade espe-



Quadro 1. Atividade proteolítica de quarenta e seis espécies de *Ficus*.

Espécies * de <i>Ficus</i>	Procedência	Atividade (unid./ml)	Proteína * (mg/ml)	Atividade específica (unid.proteína/mg)
1. <i>Stenocarpa</i> (A)	Austrália	373	160	2,33
2. <i>Carica</i> (D)	Europa, Ásia, África	320	156	2,05
3. <i>Glabrata</i> <sup>3</sup> (A)	Brasil	353	183	1,93
3. <i>Glabrata</i> <sup>3</sup> (R)	Brasil	259	126	2,06
3. <i>Glabrata</i> <sup>3</sup> (Enz.DevelopCorp.)	Brasil	201	119	1,69
3. <i>Glabrata</i> <sup>3</sup> (Merck and Co.)	Brasil	-	-	1,38
4. <i>Stephencarpa</i> (A)	Austrália	636	420	1,52
5. <i>Parceli</i> (L)	Ilhas do Pacíf.	122	104	1,17
6. <i>Benjamin</i> (R)	Ásia	82,2	68,6	1,20
7. <i>Tueckheimeri</i> (R)	-	60,5	72,6	0,834
8. <i>Pumila</i> (L)	Ásia	240	396	0,606
9. <i>Petiolaris</i> (A)	México	33,6	58,6	0,573
10. <i>Jacquinaefolia</i> (L)	Cuba	72,6	169,2	0,429
11. <i>Glomerata</i> (L)	Ásia	128	386	0,332
12. <i>Mysorensis</i> (L)	Ásia	51,3	159,6	0,322
13. <i>Retusa</i> (L)	Ásia	103	336	0,307
14. <i>Archeri</i> (A)	Colômbia	15,0	98,6	0,152

(continua)



Quadro 1. (continuação)

Espécie de <i>Ficus</i> *	Procedência	Atividade (unid./ml)	Proteína* (mg/ml)	Atividade específica (unid.proteína/mg)
15. <i>Racemosa</i> (L)	Ásia	39, 3	312	0, 126
16. <i>Mallotocarpa</i> (A)	África	23, 5	194	0, 121
17. <i>Watkinsiana</i> (L)	Austrália	10, 4	88	0, 118
18. <i>Elastica</i> (L)	Ásia	1, 2	10, 6	0, 11
19. <i>Murrayama</i> <sup>4</sup> (A)	Brasil	16, 5	147	0, 112
20. <i>Religiosa</i> (A)	Ásia	16, 7	150	0, 111
21. <i>Capensis</i> (L)	Austrália	28, 2	254	0, 111
22. <i>Wightiana</i> (A)	Ásia	15, 2	141	0, 108
23. <i>Hermeana</i> (L)	Austrália	14, 7	145	0, 101
24. <i>Sycomorus</i> (A)	África	52, 4	534	0, 0982
25. <i>Thonningii</i> <sup>5</sup> (A)	África	16, 1	169	0, 0953
26. <i>Graphtholocarpa</i> (L)	-	13, 4	142	0, 0945
27. <i>Hispida</i> (R)	Ásia, Austrália	5, 62	61, 6	0, 0912
28. <i>Infectoria</i> (L)	Ásia	4, 6	50, 6	0, 091
29. <i>Rumphii</i> (R)	Ásia	7, 8	87, 2	0, 090
30. <i>Nekbudu</i> (R)	África	2, 8	33, 2	0, 084
31. <i>Rubiginosa</i> (L)	Austrália	4, 1	49, 2	0, 084
32. <i>Obliqua</i> (L)	Ilhas do Pacífico	10, 5	128	0, 082
33. <i>Padifolia</i> (R)	México	7, 3	94, 6	0, 077
34. <i>Aurea</i> (A)	Flórida	4, 4	68, 0	0, 065
35. <i>Nota</i> (A)	-	9, 1	167	0, 054

(continua)

Quadro 1. (continuação)

Espécie de <i>Ficus</i> *	Procedência	Atividade (unid./ml)	Proteína* (mg/ml)	Atividade específica (unid.proteína/mg)
36. <i>Monckii</i> (A)	Paraguai, Argentina	3,8	78,6	0,048
37. <i>Monckii</i> (R)	Paraguai, Argentina	4,5	113	0,040
37. <i>Burkei</i> (L)	África, Austrália	1,2	29,2	0,041
38. <i>Goldmanni</i> (A)	México	15,8	392	0,040
39. <i>Belengeri</i> (L)	Austrália	3,4	103	0,033
40. <i>Benghalensis</i> (L)	Ásia	3,7	112	0,033
41. <i>Bonplandiana</i> (L)	México	2,8	109	0,026
42. <i>Macrophylla</i> (L)	Austrália	0,30	17,6	0,017
43. <i>Lyrata</i> (L)	África	0,60	40,6	0,015
44. <i>Roxburghii</i> (A)	Ásia	0,10	6,8	0,015
45. <i>Altissima</i> (L)	Ásia	0,40	36,0	0,011
46. <i>Diversifolia</i> (A)	Malaya	0,10	9,64	0,010

- 1) A letra em parêntesis indica a localização do espécime, sendo A = Arcadia, D = Davis, L = Los Angeles e R = Riverside. Ver o texto para melhores detalhes na localização.
- 2) O conteúdo de proteína foi determinado pelo método de Lowry (8).
- 3) A designação Anthelminthica é preferida pelo Index Kewensis.
- 4) A designação Princeps é preferida pelo Index Kewensis.
- 5) A designação Microcarpa pelo Index Kewensis.



cífica de *F. stenocarpa*. Os látices de *F. glabrata* coletados de duas localidades da Califórnia tinham quase a mesma atividade específica, embora houvesse marcante diferença na atividade e proteína por ml de látex (Quadro 1). A atividade específica do látex do Peru não é estritamente comparável por causa das condições incontrolláveis de estocagem. Ademais, isto é consubstanciado pela atividade específica ainda mais baixa do pó de *F. glabrata*. Outras preparações comercialmente disponíveis do látex de *F. glabrata* examinadas variaram tão pouco como 0,20 em atividade específica.

Os látices de *F. monckii*, coletados de duas localidades da Califórnia, tinham essencialmente a mesma atividade específica, muito embora a atividade e o conteúdo de proteína das duas diferissem.

A melhor documentação sobre a constância da atividade proteolítica específica dentro de uma espécie, provém de dados de um número de variedades de *F. carica* (Quadro 2). A atividade específica média é  $3,39 \pm 0,26$  e as atividades específicas variam apenas de 3,90 para Blanquette a 2,95 para Calimyrna. Examinamos os látices da variedade Kadota de *F. carica* de diversas localidades da Califórnia e em várias épocas durante o ano (dados não publicados). Se bem que houvesse uma variação evidente na quantidade de atividades por ml, dependente de práticas culturais e época do ano, verificou-se que a atividade específica era notadamente constante.

A diferença na atividade específica para os látices de *F. carica*, indicada nos Quadros 1 e 2, é o resultado da diálise de tôdas as amostras do Quadro 2, antes da análise.

Composição do enzimo proteolítico. As propriedades electroforéticas das proteínas de *F. glabrata* e de várias variedades de *F. carica* são mostradas na Fig. 1. É aparente que há um número de proteínas em cada um dos látices e que os componentes de proteína



Quadro 2. Atividade proteolítica de 16 variedades de *F. carica*<sup>1</sup>.

<i>F. carica</i> variedades	Atividade (unid./ml)	Proteína <sup>2</sup>	Atividade específica (unid.proteína/mg)
<i>Adriatic</i>	262	79,2	3,31
<i>Beall</i>	230	73,6	3,13
<i>Black Mission</i>	424	121	3,50
<i>California</i>			
<i>Brown Turkey</i>	167	52,0	3,22
<i>Conadria</i>	368	118	3,12
<i>Earlimont</i>	356	100	3,56
<i>Fraga</i>	260	77,0	3,38
<i>Kadota</i>	364	107	3,40
<i>Martiniue</i>	238	66,0	3,61
<i>Blanquette</i>	554	142	3,90
<i>Calimyna</i>	212	71,7	2,95
<i>King</i>	558	150	3,72
<i>Marabout</i>	304	82,5	3,68
<i>Pied de Boeuf</i>	310	95,5	3,25
<i>Roeding<sup>-3</sup></i>			
<i>Caprifig</i>	377	112	3,37
<i>Stanford</i>			
<i>Caprifig</i>	554	176	3,15

<sup>1</sup>Tôdas as análises foram realizadas após diálise dos látices.

<sup>2</sup>O conteúdo de proteínas foi determinado pelo método do biureto (2).

de cada látex diferem tanto qualitativamente (diferente mobilidade electroforética) como quantitativamente daqueles de outros látices. Examinamos, também, vários dos látices de diferentes espécies de *Ficus* por electroforese de disco de gel poliacrilamido. Os látices examinados mediante certa técnica eram todos diferentes na sua composição de proteína.

As técnicas electroforéticas para comparar os látices sofriam da desvantagem de não ser capazes de quantificar adequadamente a proteína e a atividade de enzimo. A cromatografia da coluna, embora requeira muito mais tempo para as separações, permite uma tal descrição quantitativa. Os resultados de algumas análises típicas dos látices de quatro espécies de *Ficus* são mostrados na Figura 2.

Na Figura 3, são mostrados em bases comparativas, os dados para várias espécies de *Ficus*. Isto se compara com aquêle obtido para diversas variedades de *F. carica* (Fig. 4, ref. 11). A locação do diagrama de barra ao longo do eixo  $x$  indica o volume de eluição para o pico de um componente, enquanto que a altura da barra indica a porcentagem da atividade total ou proteína, como recuperada da coluna, contribuída por êsse componente. A atividade específica relativa dos componentes pode ser determinada por comparação das alturas das barras pretas (atividade) e brancas (proteína) de cada componente. Aquêles componentes com letras idênticas dentro de cada figura são cromatograficamente idênticos. A precisão das análises cromatográficas, como verificada por análises em duplicata e por experiência prévia, particularmente com cromatografia do látex da variedade Kadota de *F. carica*, foi usada para marcar com letras os componentes individuais. Onde uma sequência de componentes fôr encontrada dentro de qualquer látex (por exemplo), K através de R na variedade Kadota de *F. carica*, (Fig. 3), a marcação das letras é fácil. Em muitos poucos pesos, a marcação das letras pode ser algo arbitrário, se bem que estatisticamente significativo, na base dos dados disponíveis.



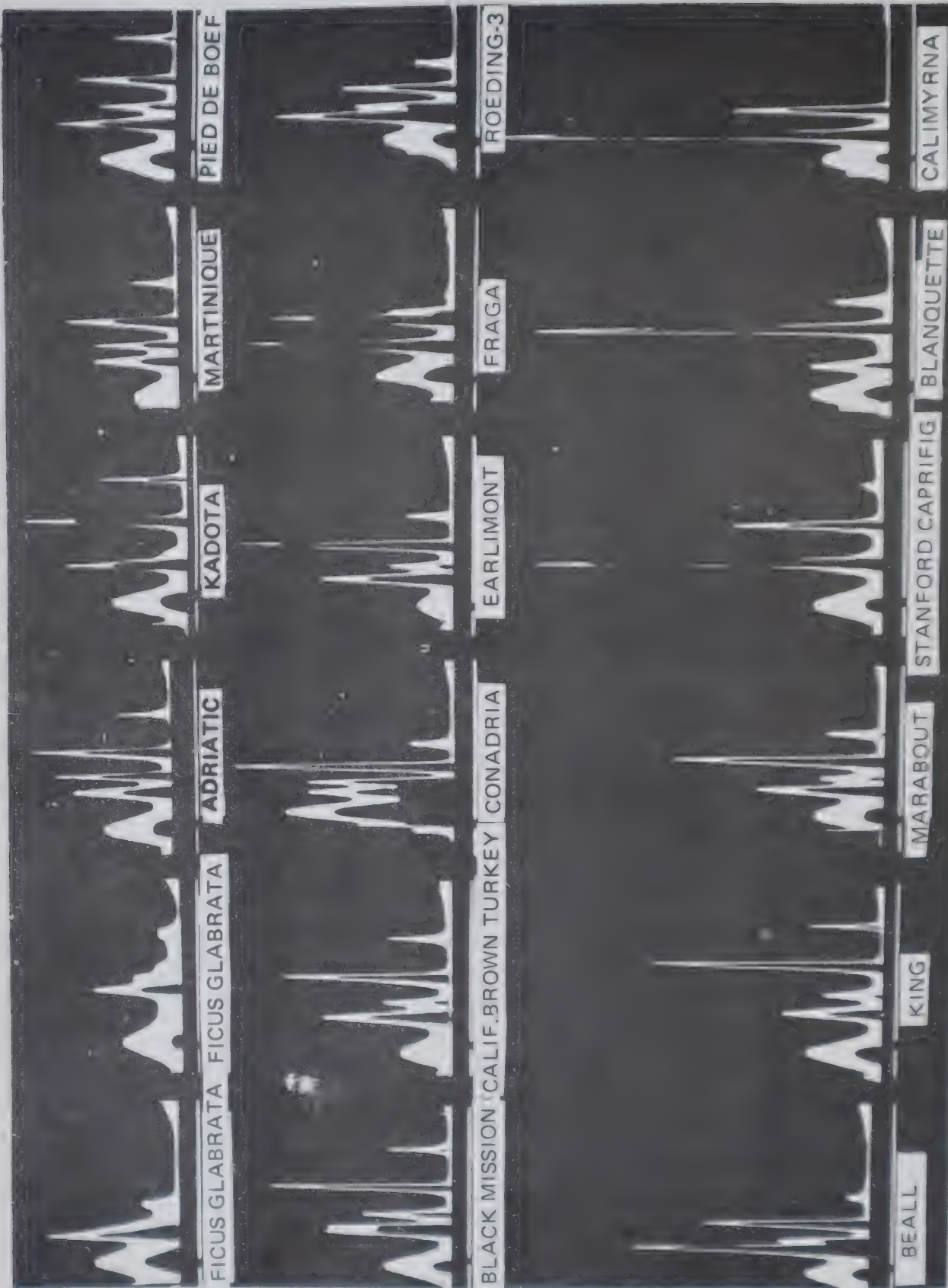




Fig. 1. Modelos electroforéticos ascendentes de banda livre dos látices de 16 variedades de *F. carica* e *F. glabrata*. As bandas ascendentes foram fotografadas após 4.000 segundos, exceto a segunda de *F. glabrata* que foi a 7.200 segundos. O ponto de partida inicial é na quebra na linha base no fundo da corda modelo. O cátodo era à direita do modelo. A condutibilidade específica das soluções era de 113 ohms por cm. Os modelos para *F. glabrata* (4.000 seg), Kadota, Black Mission e Calimyrna foram relatados previamente (11).

No caso dos látices das seis espécies examinadas de *Ficus*, os dados indicam que há um mínimo de 26 componentes de proteína cromatograficamente distintos com atividade proteolítica (Fig. 3). Não há componente único que ocorra em todas as espécies examinadas. Como se poderia esperar, a composição do enzimo proteolítico dos látices das nove variedades de *F. carica* examinadas era mais uniforme do que aquele de diferentes espécies (Fig. 4). Nos látices das nove variedades parece haver um mínimo de 16 componentes cromatograficamente distintos. Será notado que o esquema de eluição escalonada usado na cromatografia dos látices das diversas variedades de *F. carica* era mais discriminador do que o esquema de eluição de gradiente linear usado para os látices das várias espécies. Oito dos nove látices foram achados ter componentes J e P, enquanto que os componentes A, B, H e L foram encontrados em seis das nove variedades. Por outro lado, o látex da variedade Kadota tinha 10 componentes de enzimo proteolítico, enquanto que os látices das variedades Blanquette e Calimyrna tinham apenas 4 cada um. No látex de Calimyrna, o componente H era predominante, enquanto que no da Blanquette predominava o J.

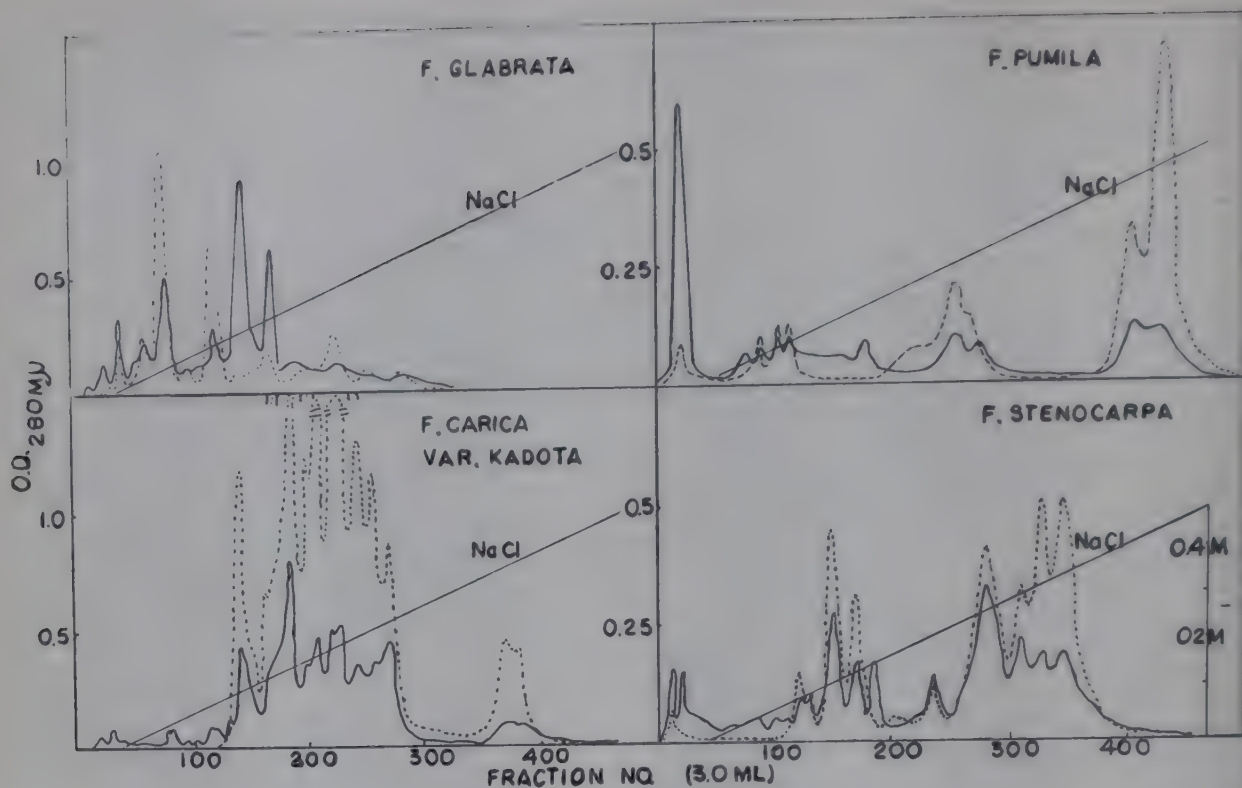
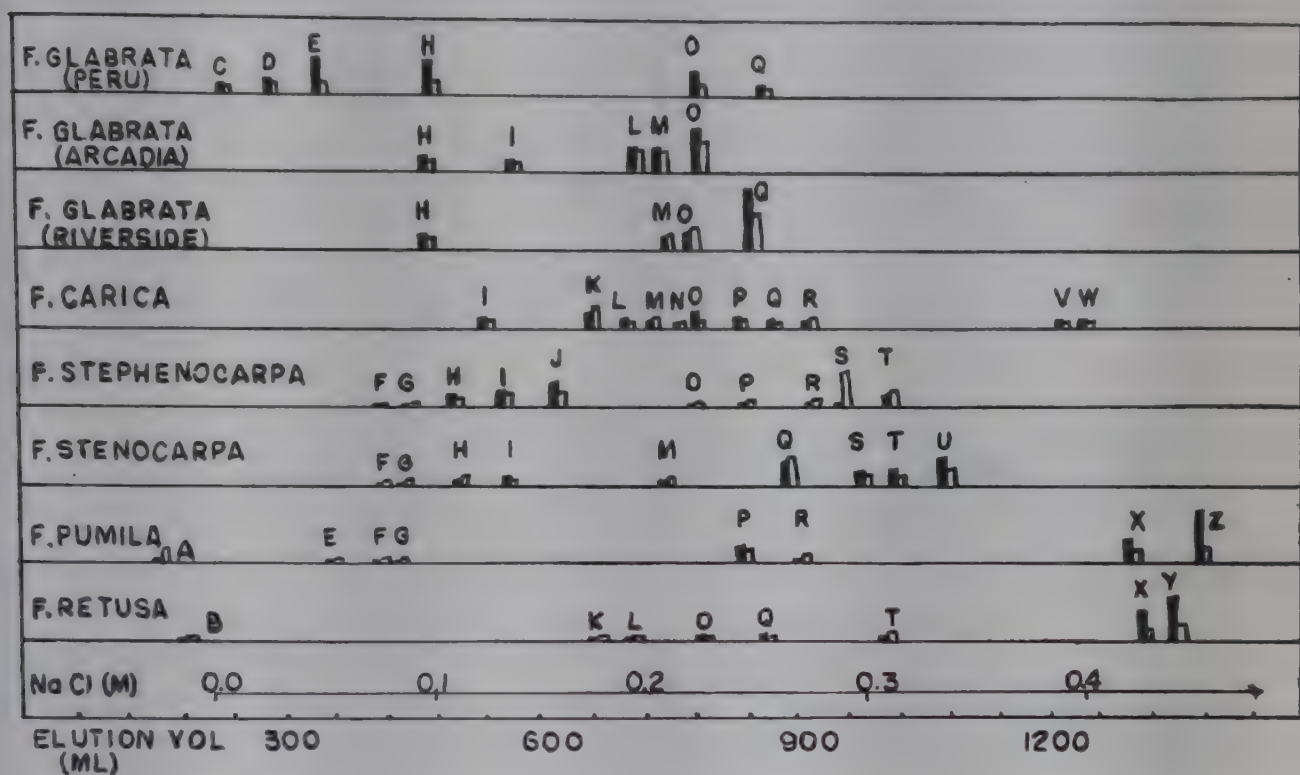


Fig. 2. Separação cromatográfica das proteínas dos látices de quatro espécies de *Ficus* numa coluna de CM-celulose (1,2 x 4,5 cm) a pH 7,0. O tampão inicial de partida foi tampão fosfato 0,01 M, pH 7,0. A eluição foi com um gradiente linear NaCl, como indicado pela linha cheia; a atividade por ml por min é indicada pela linha sombreada. O látex de *F. glabrata* era do Peru.

Houve diferenças cromatográficas marcantes entre os látices de *F. glabrata* de três fontes diferentes (Fig. 3). No látex do Peru, há três componentes (C, D e E) que não ocorrem nos látices de Riverside e Arcadia. Apenas 50% (quatro) dos componentes combinados dos látices de *F. glabrata* de Riverside e Arcadia eram cromatograficamente idênticos.



**Fig. 3.** Representação diagramática de proteínas proteoliticamente ativas dos látices de seis espécies de *Ficus*. As condições experimentais são descritas na Fig. 2 e no texto. As alturas das barras pretas (atividade) e brancas (proteína) indicam a contribuição relativa de cada componente à atividade ou proteína global como recuperada da coluna. A locação ao longo do eixo-X indica o volume de eluição do pico do componente. Os componentes designados pela mesma letra são cromatograficamente idênticos.



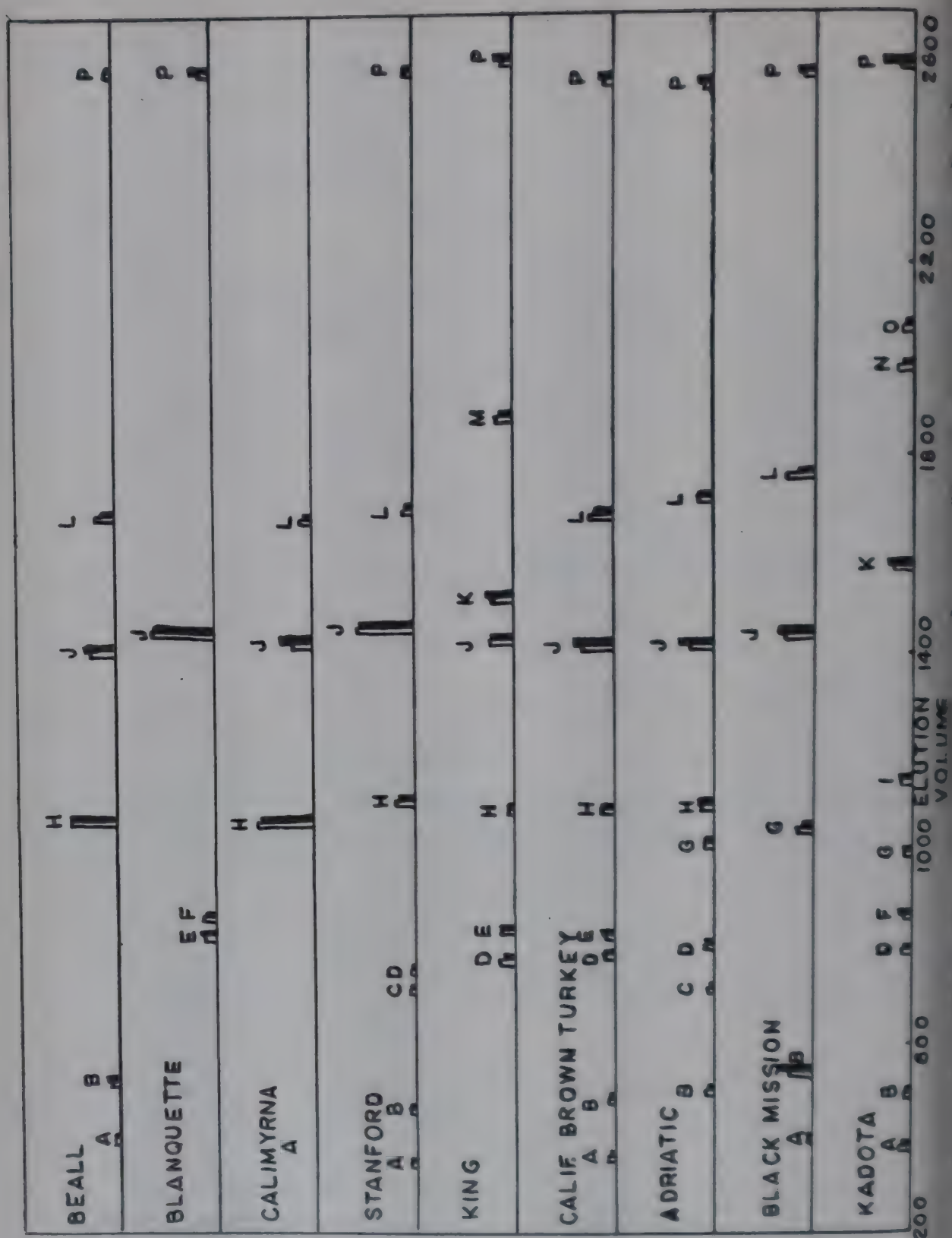


Fig. 4. Representação diagramática da separação de proteínas proteoliticamente ativas dos látices de nove variedades de *F. carica* (11). Os diagramas de barras têm a significação indicada na Fig. 3.

## DISCUSSÃO

A alta atividade proteolítica no látex não é uma feição distintiva do gênero *Ficus*. Das 46 espécies de *Ficus* examinadas, apenas 13 tinham o que pode ser classificado como alta atividade proteolítica. Esta observação confirma o relato muito anterior, de Robbins e Lamson (10), que relataram que os látices de 7 das 16 espécies de *Ficus* não tinham atividade proteolítica mensurável. Seus resultados, em que se usou a gelatina como substrato, eram algo qualitativos quando a atividade era dada apenas em termos do volume do látex usado no ensaio. Como apontado acima, o conteúdo de proteína do látex pode variar extremamente, dependendo das condições culturais e da estação.

A atividade proteolítica foi achada estar distribuída entre várias proteínas cromatograficamente distintas em todos os látices examinados. Êstes componentes múltiplos não são produtos artificiais das condições de armazenamento e separação. Os látices das variedades Kadota e Black Mission de *F. carica* foram examinadas de diversas localidades da Califórnia e em várias épocas do ano. Se bem que a atividade total (unidades por ml de látex) fôsse achada ser marcadamente diferente, os componentes do enzimo proteolítico eram constantes e totalmente característicos da variedade. Os látices foram coletados diretamente em p-cloro-mercuri-benzoato de sódio (ou em tetracionato de sódio que reage com o grupo sulfídrico essencial do enzimo para eliminar toda atividade proteolítica. A separação cromatográfica deste material completamente inibido produziu o mesmo número de componentes com atividade proteolítica (após reativação com cisteína). Em tentativas deliberadas para causar produtos artificiais, os látices foram incubados a 35° durante 3-4 dias. Exceto por um abaixamento na atividade específica, não houve formação de novos componentes com atividade proteolítica. Em nossa extensa investigação dos látices de *F. glabrata* e da variedade Kadota e *F. carica*, mostramos que os componentes isolados recromato-



grafam como componentes únicos (5, Williamsen, Whitaker, dados não publicados). Em apenas um caso, até agora, fomos bem sucedidos em observar a formação de um componente de outro. Se o componente F do látex da variedade Kadota de *F. carica* (Fig. 5) é armazenado a 4º em tampão fosfato, pH 7,0, durante várias semanas, é lentamente convertido ao componente D (Kramer e Whitaker, dados não publicados).

Dos dados apresentados e de outros dados disponíveis, pudemos concluir que a atividade proteolítica de todos os látices examinados, está contida em componentes múltiplos de proteína e que esta distribuição é característica de espécies e variedades, das quais o látex é derivado. Não cremos que a variabilidade dos componentes em três amostras de látex de *F. glabrata* invalide esta conclusão. Embora as duas árvores de Riverside e Arcadia sejam idênticas por características taxonômicas clássicas, não parecem ser inteiramente idênticas, baseado nas propriedades cromatográficas dos enzimos proteolíticos. Existem, sem dúvida, variedades de *F. glabrata* justo como existem pelo menos 700 variedades designadas de *F. carica* (1). O látex de *F. glabrata* do Peru pode ser ainda outra variedade. Nós examinamos a composição do enzimo proteolítico de látices e após obtidos de todos os maiores fornecedores de "ficina" (os enzimos proteolíticos do látex do figo) nos Estados Unidos e verificamos ser cromatograficamente idêntica em base qualitativa. A quantidade de atividade foi verificada que varia extremamente entre as preparações, o que é um reflexo das condições de manuseio.

Se bem que a distribuição da atividade proteolítica entre os componentes de várias proteínas fôsse inteiramente diferente para os látices de várias variedades de *F. carica* (11), a atividade específica era remarcadamente constante. Parecerá, portanto, que a presença de componentes múltiplos com atividade proteolítica não é uma tentativa da planta para variar a



quantidade de atividade proteolítica. Estes vários componentes do enzimo não parecem ter especificidades de substrato amplamente diferentes, embora pareçam existir, a esse respeito, algumas diferenças significativas entre os componentes da variedade Kadota de *F. carica* e *F. glabrata* (trabalho não publicado).

#### LITERATURA

1. CONDIT, I.J. Fig varieties: a monograph. *Hilgardia* 23 (11): 323-538, 1955.
2. GORNALL, A.G., BARDAWILL, C.J. & DAVID, M.M. Determination of the serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177: 751-766, 1949.
3. HOCKER, J.D. & KACKSON, B.D. Index Kewensis and supplements, Oxford at the Clarendon Press, London, 1895.
4. HUTCHINSON, J. In The Families of Flowering Plants, 2nd. ed., Vol. I, p. 201, 1959.
5. KRAMER, D.R. & WHITAKER, J.R. Ficus enzymes II. Properties of the proteolytic enzymes from the latex of *Ficus carica* variety Kadota. *J. Biol. Chem.* 239: 2178-2183, 1964.
6. KRAUSE, O. Cytological studies of the Urticales. *Deutsch. Bot. Gesell. Ber.* 48: 9-13, 1930.
7. KUNITZ, M. Crystalline soybean trypsin inhibitor II. General properties. *J. Gen. Physiol.* 30: 291-310, 1947.
8. LOWRY, O.H., RODEBROUGH, N.J. FARR, A.L. & RANDALL R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.

9. PETERSON, E.A. & SOBER, H.A. Chromatography of proteins I. Cellulose ion-exchange adsorbents. J. Am. Chem. Soc. 78: 751-755, 1956.
10. ROBBINS, B.H. & LAMSON, P.D. Further studies on the proteolytic enzyme content of latex from the fig and related trees. J. Biol. Chem. 106: 725-728, 1934.
11. SGARBIERI, V.C., GUPTE, S.M., KRAMER, D.E. & WHITAKER, J.R. Ficus enzymes I. Separation of the proteolytic enzymes of Ficus carica and Ficus glabrata latices. J. Biol. Chem. 239: 2.170-2.177.
12. TAUBER, R. The Chemistry and Technology of Enzymes. John Wiley and Sons, New York, 1949.



## CARACTERÍSTICAS VISCOGRÁFICAS DE VARIEDADES DE ARROZ EM CULTURAS DE SEQUEIRO E DE VÂRZEA (IRRIGADO)

Policarpo Vitti

### RESUMO

Em oito diferentes amostras de arroz em casca, compreendendo duas variedades, Batatais e Dourado Precoces, cultivadas sob condições de várzea irrigada e de sequeiro, com duas granulações de moagem em cada caso, procedeu-se ao exame de viscosidade em aparelho amilógrafo-viscógrafo Brabender, com determinação da viscosidade no resfriamento, ou valor de "set-back", à temperatura de 50°C.

Os resultados e as curvas viscográficas revelam que as amostras correspondentes ao arroz de várzea irrigado apresentaram, de modo geral, maior pico de viscosidade e maior valor de "set-back", e que pode ser relacionado com melhor comportamento industrial e melhores qualidades de cozimento.

### SUMMARY

VISCOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF RICE VARIETIES GROWN IN IRRIGATED AND NON-IRRIGATED CONDITIONS. The different samples of rice were hulled and husked in order to remove the outer layer of the seeds (pericarp). The next operation consisted in grinding the rice and screening through a 200 mesh screen. By this procedure two samples were obtained, one represented by part of the flour that was retained in the screen and the other one by that passing through the screen. Two rice varieties were analysed named Batatais and Dourado Precoces, both cultivated in highland and lowland crops. So eight different samples were prepared to be analysed. The viscosity was determined in an amylograph-viscograph Brabender, being determined the initial temperature of gela-



tinization, as well as temperature of maximum viscosity. The viscosity during cooling or set back value was determined at 50°C.

The curves obtained and the different collected data have shown that the samples from the lowland irrigated rice crop presented a high peak for viscosity and a higher value for the set-back test which can be related to a better behavior in industrial process as well a better cooking qualities.

## INTRODUÇÃO

Há diversos trabalhos publicados relativos às características físico-químicas de variedades de arroz, mas muito pouco, ou quase nada, se dispõe em relação ao comportamento viscográfico de uma mesma variedade, quando cultivada em condições de sequeiro ou irrigada.

As pesquisas existentes referem-se a outros países, portanto, com variedades diferentes das nacionais. Assim, Kester e outros (4), em estudos realizados na Califórnia sobre a influência da maturação nas propriedades de diversas variedades de arroz, chegaram à conclusão de que os valores de viscosidade atingiam um mínimo na colheita precoce, quando o arroz não estava ainda completamente maduro, para aumentarem, em seguida, durante a maior parte da maturação.

Batcher e outros (2), relacionando as características físico-químicas com as qualidades de cozimento de diversas variedades de arroz, concluíram que o tipo de grão, a variedade e as condições climáticas ou ambientais influíam na qualidade de cozimento.

Antigamente, nos Estados Unidos, a seleção de variedade de arroz para produção comercial, baseava-se em fatores tais como adaptação às condições climáticas,

resistência às doenças, produtividade e adaptabilidade à colheita mecânica e à secagem artificial. Hoje, os selecionadores de variedades têm procurado associar esses fatores com o comportamento viscográfico do arroz e relacionar, ainda, com as suas qualidades de cozimento e industriais.

Com base nessas informações e na falta de maiores dados a respeito, em nosso meio, este trabalho foi conduzido para mostrar, inicialmente, o comportamento viscográfico do arroz das variedades Dourado Precoce e Batatais, provenientes de culturas irrigadas e de sequeiro.

Futuramente, com base nestes dados, essa característica poderá ser, talvez, relacionada com o comportamento dessas variedades no cozimento, bem como as suas propriedades físico-químicas.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras estudadas compreendem duas variedades, cultivadas sob condições de irrigação e de sequeiro, com duas granulações de moagem, totalizando, assim, oito tratamentos, a saber:

- B<sub>1</sub> - Batatais de sequeiro 15 xx
- B<sub>2</sub> - Batatais de sequeiro n/15xx
- B<sub>11</sub>- Batatais irrigado n 15/xx
- B<sub>12</sub>- Batatais irrigado n/15xx
- DP<sub>1</sub> - Dourado Precoce de sequeiro 15xx
- DP<sub>2</sub> - Dourado Precoce de sequeiro n/15xx
- DP<sub>11</sub>- Dourado Precoce irrigado 15xx
- DP<sub>12</sub>- Dourado Precoce irrigado n/15xx

O preparo das amostras consistiu no benefício de arroz em casca, em moinho especial, obtendo-se, assim, o arroz branco, que sofreu em seguida uma dupla moagem em moinho "Miag". O material obtido foi passa-



do por peneira de 200 "mesh" (15xx). Obteve-se, assim, dois tipos de amostras: a que ficou retida na peneira, n/15xx, e a que passou pela peneira, 15xx.

As análises feitas nas amostras consistiram na determinação de umidade, pelo método usual, e nos testes de viscosidade ou determinação das curvas de viscosidade, executados em aparelhos Amilôgrafos-Viscôgrafos, modelo Standard da Brabender Corp., Rochelle Park, N.J.

Para determinação da viscosidade, tomou-se uma quantidade de amostra equivalente a 55 gramas, com 13,04% de umidade (Quadro 1), a qual, depois de adicionados 450 cc de água destilada, foi colocada imediatamente no copo do aparelho. A temperatura foi ajustada para 25°C e, a seguir, elevada à razão de 1,5°C/min., até atingir 95°C. Esta temperatura foi mantida durante 20 minutos e, em seguida, foi abaixada à razão de 1,5°C/min. A viscosidade no resfriamento, ou valor de "set-back", foi determinada a 50°C.

Na curva de viscosidade, os seguintes valores de maior interesse foram anotados, os quais se acham inseridos no Quadro 2.

a) temperatura inicial de gelatinização, em graus centígrados (°C);

b) temperatura de viscosidade máxima ou pico de viscosidade, em graus centígrados (°C);

c) viscosidade máxima ou pico de viscosidade, em unidades Brabender (u.B.);

d) viscosidade a 95°C, em unidades Brabender (u.B.);

e) viscosidade após 20 minutos a 95°C, em unidades Brabender (u.B.);



f) viscosidade no "set-back", a 50°C, em unidades Brabender (u.B.);

g) viscosidade após 20 minutos a 50°C, em unidades Brabender (u.B.).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de umidade obtidos para as diversas amostras e as quantidades de material a serem usadas nas determinações de viscosidade, com base em 55 gramas e 13,04% de umidade, são encontradas no Quadro 1.

Quadro 1. Quantidades de arroz utilizadas para determinação da viscosidade, em cada amostra.

Amostra	Umidade	Quantidade
	<u>%</u>	<u>g</u>
B <sub>1</sub>	11,94	54,31
B <sub>2</sub>	12,12	54,31
B <sub>11</sub>	13,04	55,00
B <sub>12</sub>	12,17	54,45
DP <sub>1</sub>	11,97	54,33
DP <sub>2</sub>	12,61	54,72
DP <sub>11</sub>	12,00	54,35
DP <sub>12</sub>	12,78	54,77

As características viscográficas das amostras relativas às diferentes variedades podem ser vistas no Quadro 2.

Quadro 2. Características viscográficas do arroz irrigado e de sequeiro, das variedades Dourado Precoce e Batatais.

Amostra	a	b	c	d	e	f	g	Tempo de gelatinização
B <sub>1</sub>	$\frac{OC}{70,5}$	$\frac{OC}{89,5}$	$\frac{u.B.}{630}$	$\frac{u.B.}{575}$	$\frac{u.B.}{365}$	$\frac{u.B.}{985}$	$\frac{u.B.}{895}$	$\frac{min.}{12}$
B <sub>2</sub>	79,0	95,0	520	520	460	980	870	10
B <sub>11</sub>	71,0	91,0	630	575	320	+1000	990	12
B <sub>12</sub>	80,5	95,0	525	525	465	+1000	915	9
DP <sub>1</sub>	70,0	88,0	460	390	250	750	660	12
DP <sub>2</sub>	81,0	95,0	400	400	360	810	745	9
DP <sub>11</sub>	71,0	91,5	515	470	260	+1000	970	13
DP <sub>12</sub>	80,5	95,0	545	545	450	+1000	940	9

É sobejamente sabido que o tamanho da partícula, a concentração e outros fatores influem na dimensão e na forma da curva viscográfica e, conseqüentemente, em seus valores. Portanto, se esses fatores forem mantidos de modo constante, as diferenças observadas poderão ser atribuídas às próprias variedades.

De modo geral, as curvas viscográficas determinadas para as diferentes amostras, indicadas nas figuras 1 a 8, são típicas de cereais, porém, apresentam diferenças de acordo com as variedades, tipos de cultura e granulações.

Nas Figuras 2, 4, 6 e 8, assim como no Quadro 2, pode-se observar que a temperatura de gelatinização é sempre mais alta nas amostras que foram retidas na peneira 15xx ou de 200 "mesh". Mantendo a granulação constante, pode-se observar que, embora o arroz seja irrigado ou não, a temperatura de gelatinização foi sempre a mesma, em geral entre 70 a 71°C, para as amostras 15xx, isto é, entre as não retidas na peneira. No caso das amostras n/15xx, isto é, retidas na peneira, variou em torno de 79 a 81°C.

Conseqüentemente, a temperatura de viscosidade máxima aumentou para 95°C para as amostras n/15xx, enquanto que naquelas 15xx, variou entre 88 e 91,5°C.

O tempo de gelatinização (representado pelo número de minutos necessários para atingir a máxima viscosidade, a partir do ponto em que há aumento perceptível de viscosidade) relacionou-se apenas com o grau de finura das amostras. Assim, amostras de granulação mais fina, mostraram maior tempo de gelatinização, que foi ao redor de 12 minutos.

A associação de baixa temperatura de gelatinização e baixa temperatura de viscosidade máxima com breve tempo de gelatinização, possivelmente indique uma composição homogênea do amido (3).



As temperaturas baixas de gelatinização podem ser interessantes às indústrias que utilizam a digestão diastásica em seus processos. A baixa temperatura permite completa liquefação do amido, antes que possa ocorrer a inativação térmica do ênzimo (3).

Em relação à viscosidade máxima ou pico de viscosidade, as amostras de arroz irrigado mostraram, de modo geral, valores maiores do que as correspondentes de sequeiro, tanto nas amostras 15xx como n/15xx, como se pode ver no Quadro 2 e pelas Figuras 1, 3, 4 e 7.

Comparando-se as amostras 15xx e n/15xx, para uma mesma variedade, pode-se ver, pelas Figuras 2, 4, 6 e 8, que as primeiras mostraram um pico maior de viscosidade, exceto para o caso da DP<sub>11</sub>, que deu um valor ligeiramente menor do que o da amostra correspondente DP<sub>12</sub>, como se pode ver pela Figura 8.

Tem sido relatado (5), que o aumento de viscosidade no esfriamento, no presente caso a 50°C, reflete uma tendência de retrogradação do produto amiláceo. Ora, pelos dados do Quadro 2 e pelas Figuras 1, 3, 5 e 7, as amostras correspondentes ao arroz irrigado mostraram maior retrogradação, que chegou até mesmo a ultrapassar o valor de 1000 u.B. No tocante ao grau de finura da amostra, em relação à retrogradação, parece que a mesma não foi constatada.

As diferenças a mais ou a menos das viscosidades máximas, obtidas a 50 e a 95°C, correspondentes à viscosidade a frio e à viscosidade a quente, estão sendo atualmente utilizadas para avaliação da qualidade do arroz em programas de melhoramento de variedades. Assim, variedades de valor "set-back" alto, são as que melhor se prestam para certos tipos de processamento (arroz pré-cozido), dando produto final de melhor qualidade. Esses tipos de arroz, quando cozidos, darão produto mais sólto (1).

Figura 4.

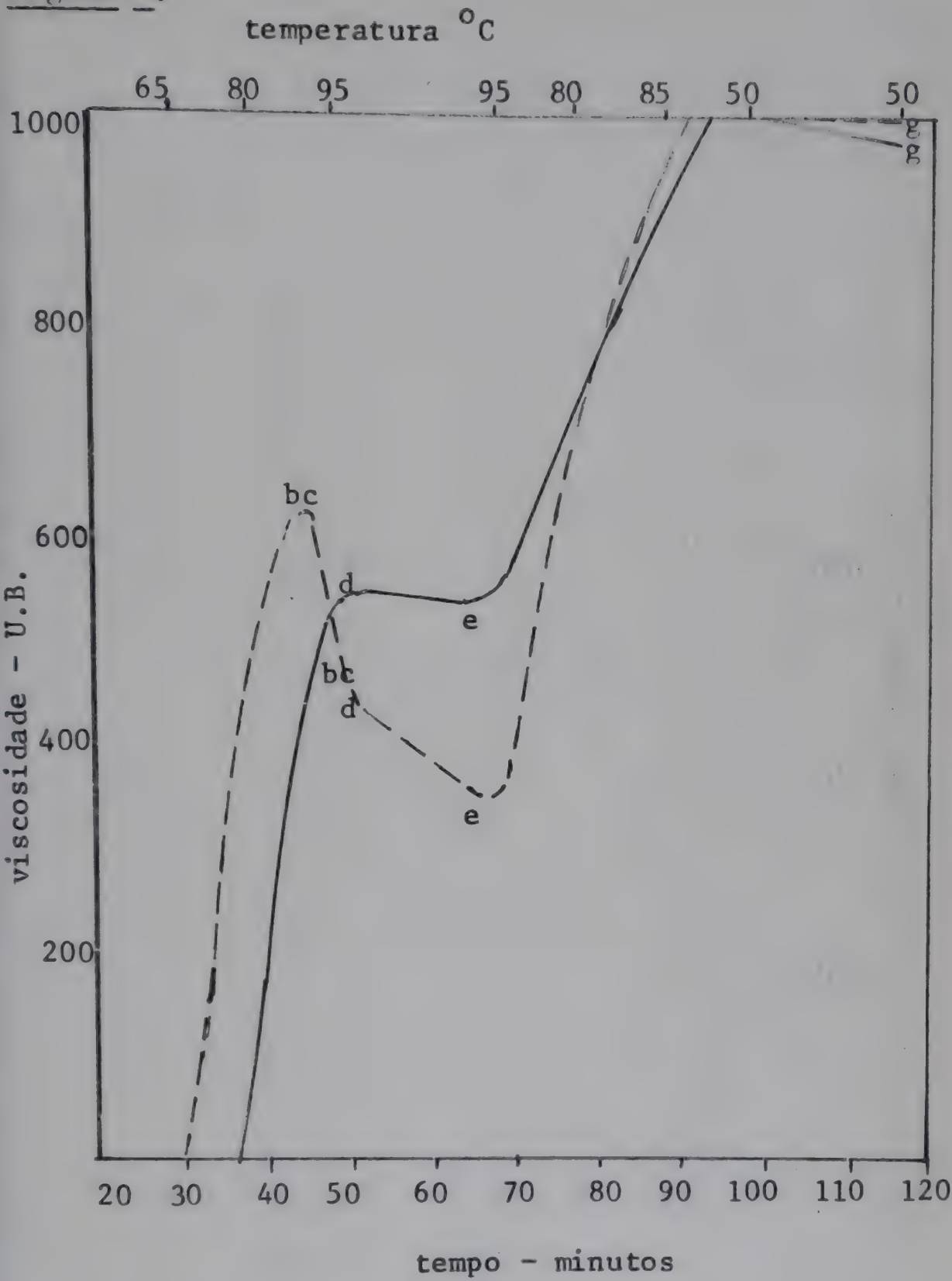


Figura 2.

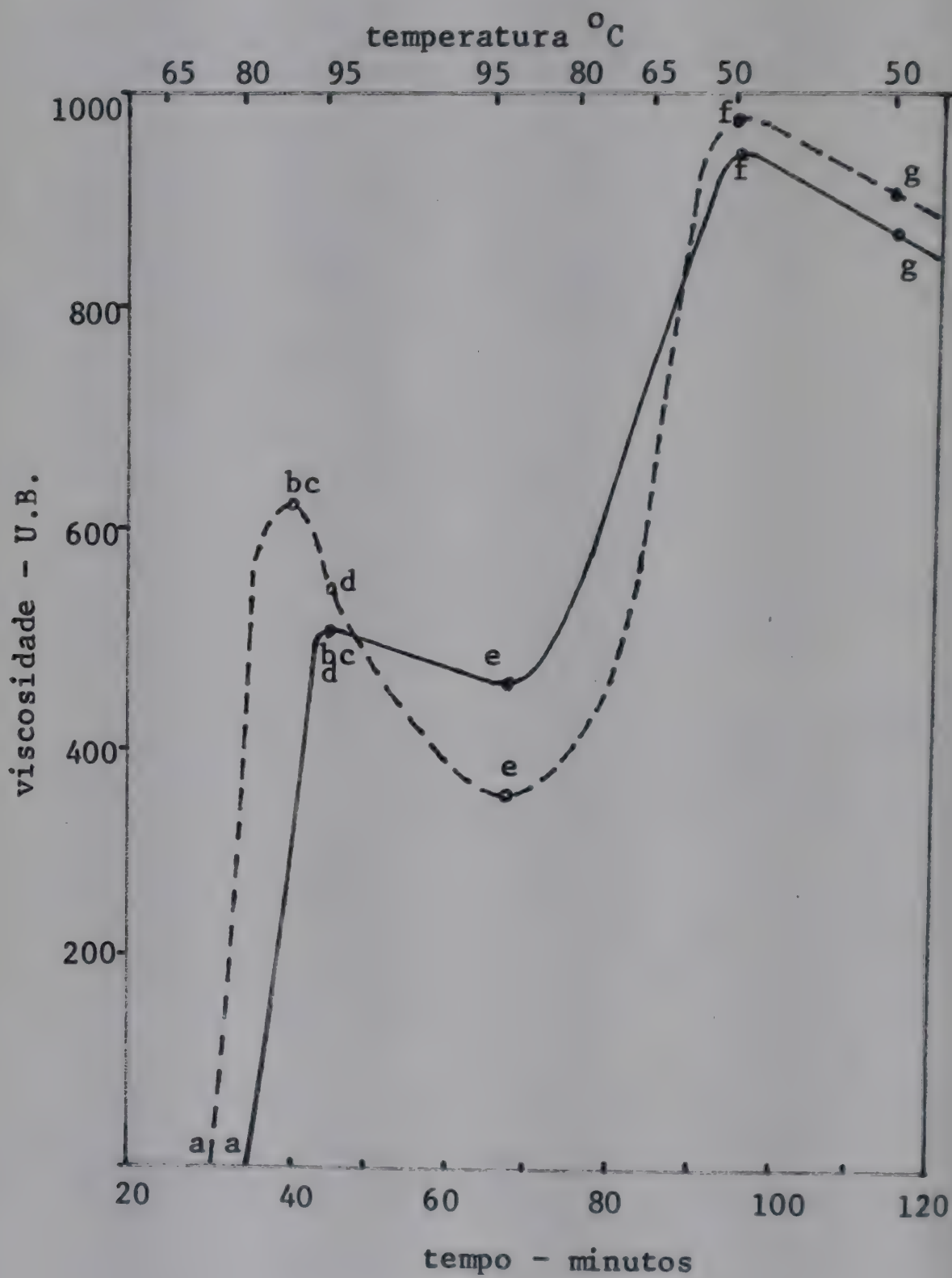
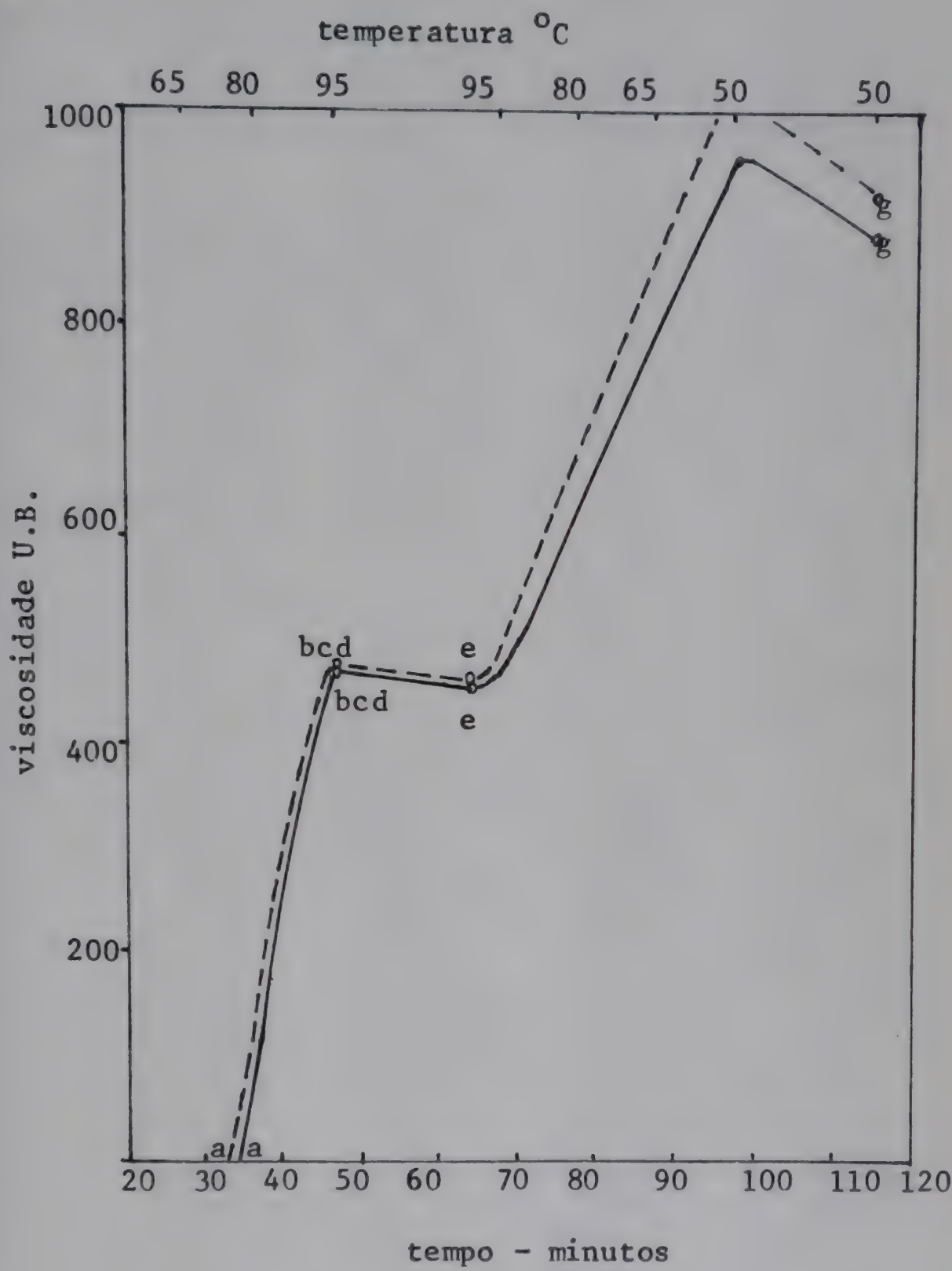




Figura 3.



Dos resultados obtidos e das curvas características apresentadas, pode-se notar, perfeitamente, que as amostras oriundas de arroz irrigado apresentaram, de modo geral, maior pico de viscosidade e maior valor de "set-back", prevendo-se, portanto, melhor comportamento industrial e melhores qualidades de cozimento.

Dados concretos desta previsão ainda não existem em nosso meio, mas os resultados aqui apresentados poderão servir de base para futuras investigações nesse sentido, em que se procurará relacionar as características físico-químicas do cereal com as qualidades de cozimento e de outras que possam existir.

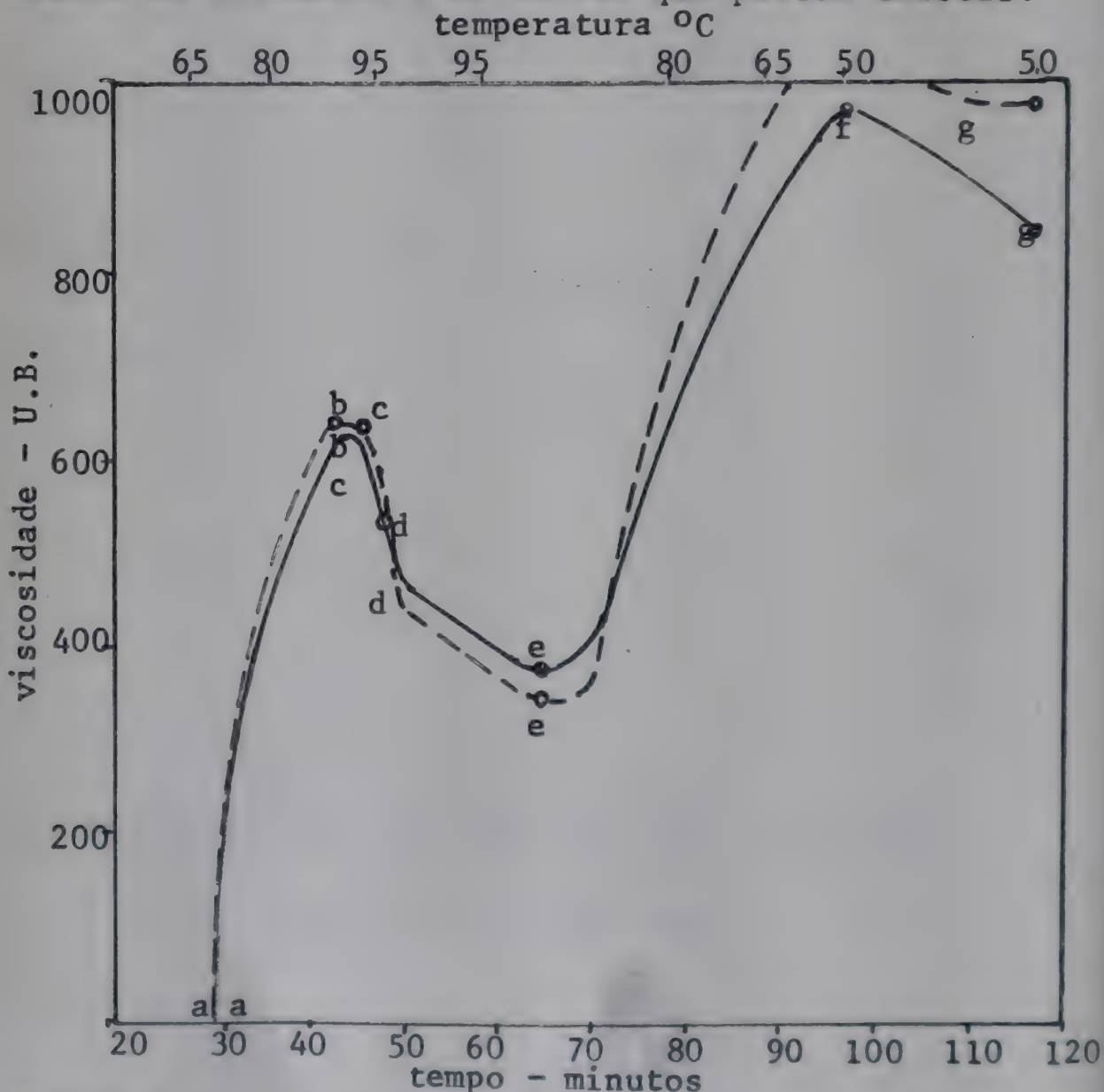


Figura 1.

Figura 5.

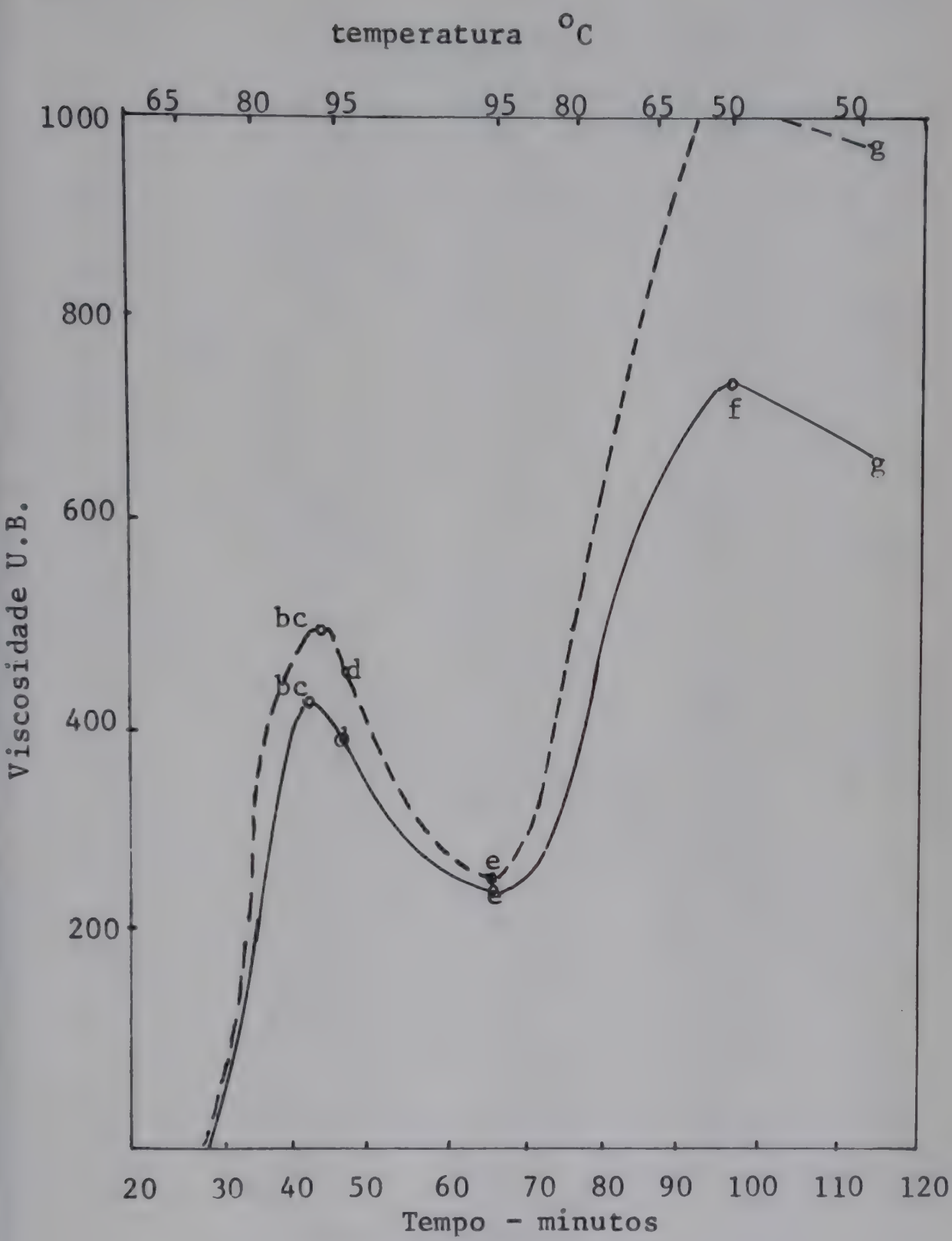




Figura 6.

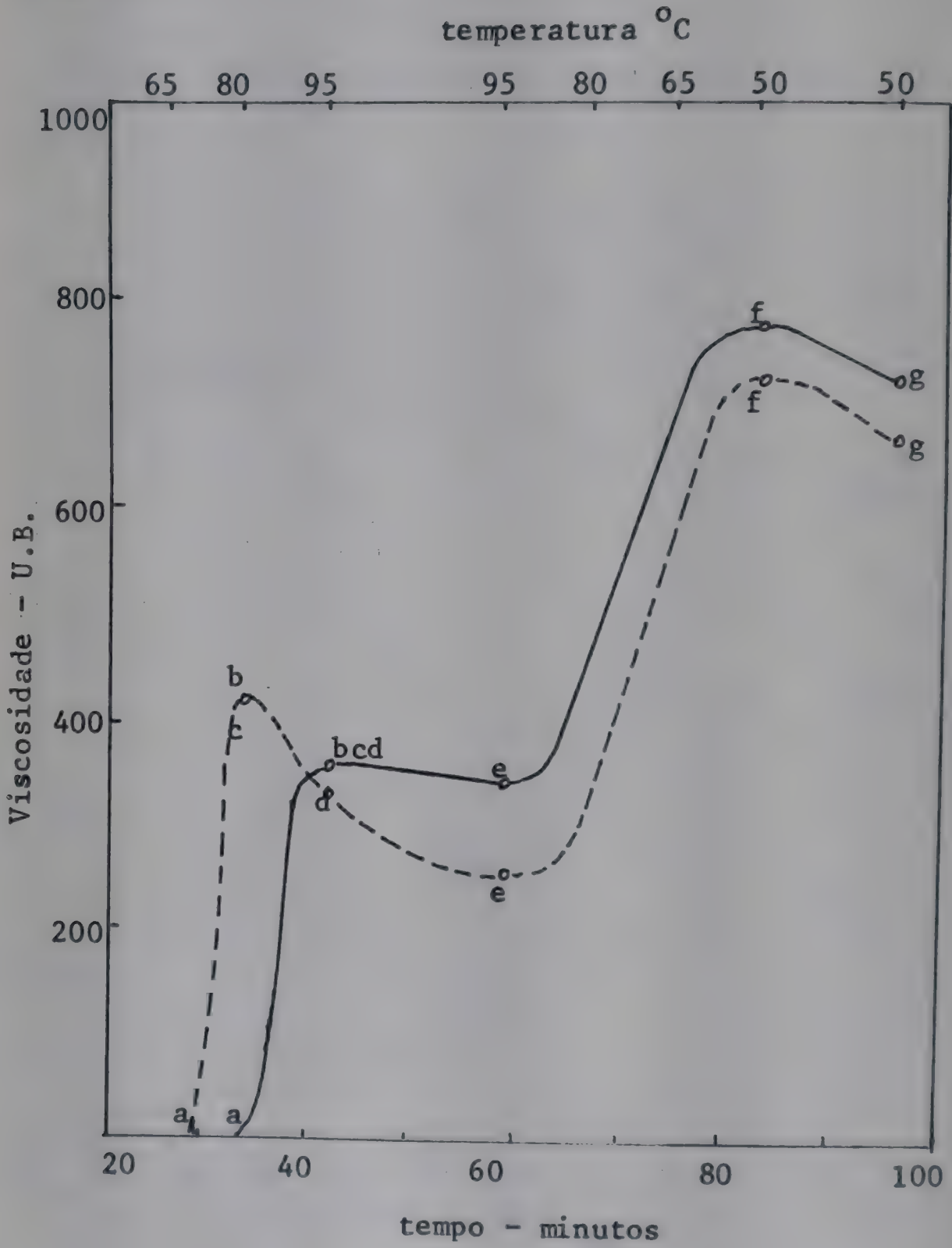


Figura 7.

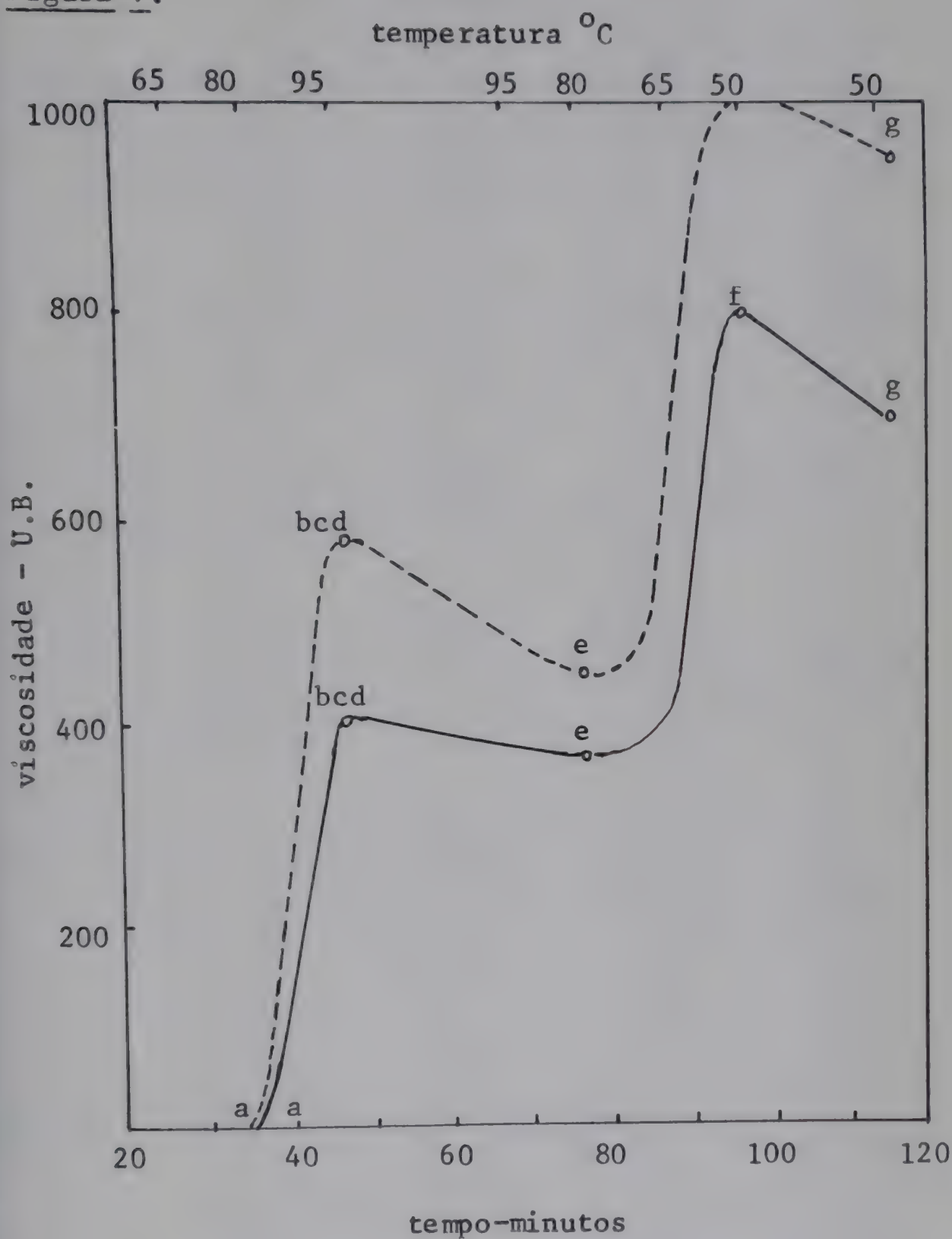
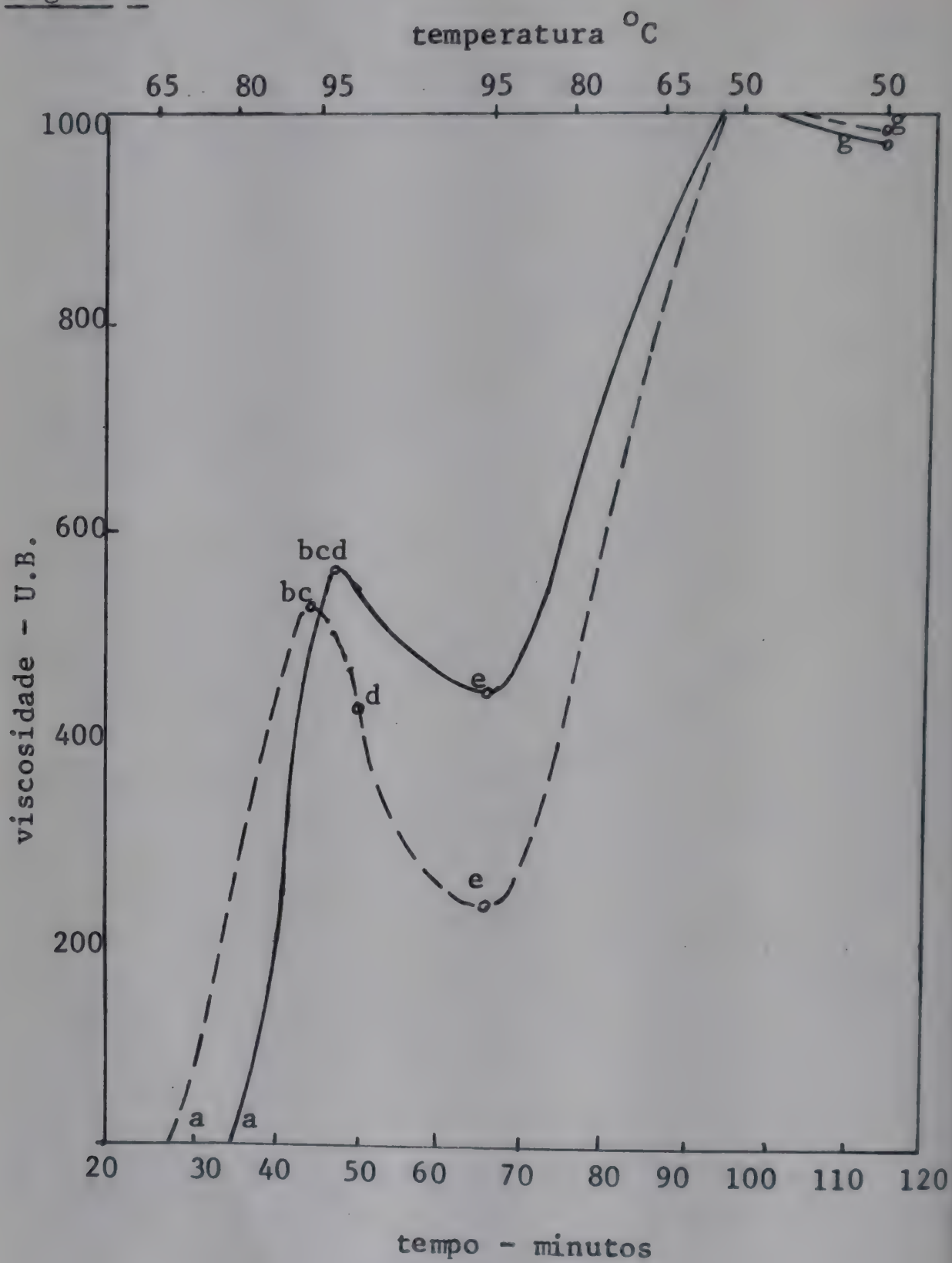


Figura 8.





## LITERATURA

1. ADAIS, C. R. Food quality factors used in Rice breeding studies. Proc. 2nd Rice utilization Con., Western Regional Research Laboratory USDA, May 18-19, p. 11-12, 1961.
2. BATCHER, O.M., DEARY, P.A. & DAWSON, E.H. Cooking quality of 26 varieties of milled white rice. Cereal Chem. 34: 277-285, 1957.
3. HALICK, J.V. & KELLY, V.J. Gelatinization and pasting characteristics of rice varieties as related to cooking behavior. Cereal Chem. 36: 91-97, 1959.
4. KESTER, F.B., LUCKENS, H.C., FERREL, R.E., MOHAMMAD, A. & FINROCK, D.C. Influence of maturity on properties of Western Rices. Cereal Chem. 40: 323-335, 1963.
5. MAZORS, E.G., SCHOCH, T.J. & KITE, F.E. Graphical analysis of the Brabender viscosity curves of various starches. Cereal Chem. 34: 141-152, 1957.



## VELOCIDADE DE ESTERIFICAÇÃO DE ALGUNS ÁCIDOS GRAXOS COMUNIS COM GLICEROL

Leopold Hartman

### RESUMO

*Ao contrário de algumas publicações recentes, verificou-se que a esterificação de 8 ácidos graxos comuns, com quantidades equivalentes de glicerol, ocorria à mesma velocidade, independentemente do peso molecular e da insaturação, se diferentes concentrações molares dos vários ácidos eram levadas em consideração.*

*Isso foi confirmado pela condução da reação em Dowtherm A como co-solvente.*

### SUMMARY

ESTERIFICATION VELOCITY OF SOME COMMONLY OCCURRING FATTY ACIDS WITH GLYCEROL. Contrary to some recent publication it was found that esterification of 8 commonly occurring fatty acids with equivalent amounts of glycerol proceeded at a similar rate independently of molecular weight and unsaturation, of allowance was made for the differing molar concentration of the acids. This was confirmed by conducting the reaction in Dowtherm A as co-solvent.

### INTRODUÇÃO

A esterificação de ácidos graxos com álcoois monoídricos, tais como metílico e etílico, demonstra algumas complexidades cinéticas.



A esterificação desses ácidos com glicerol é ainda mais complexa, em vista da função poliídrica do glicerol, sua pouca solubilidade em ácidos graxos e das temperaturas elevadas, que são necessárias para se obter uma razoável velocidade de reação. Os resultados obtidos por vários pesquisadores demonstram diferenças consideráveis. Wocasek e Koch (4) acharam que velocidades de esterificação dos ácidos esteárico, oléico e linoléico eram aproximadamente iguais. Por outro lado, Biswas e Ganguly (1) relataram que as porcentagens de seis ácidos graxos comuns, esterificados com glicerol a 180°C, aumentaram na seguinte ordem: esteárico, palmítico, mirístico, oléico, láurico e linoléico, sendo que a porcentagem de ácido linoléico esterificado, depois de uma hora, era quase o dobro daquela do ácido esteárico. Atribuíram essas diferenças a diferentes solubilidades do glicerol nos ácidos graxos em pauta. Porém, a solubilidade do glicerol depende do peso molecular do ácido (3), o que é contrário aos resultados de Biswas e Ganguly.

De acordo com um trabalho recente (2), o ácido oléico é esterificado pelo glicerol numa velocidade bastante inferior à do ácido esteárico.

Essas contradições, levaram-nos a investigar novamente a cinética da esterificação de alguns ácidos graxos comuns. Para esse fim, em uma série de ensaios os ácidos graxos foram reagidos com glicerol sem co-solvente, enquanto em outra série as esterificações foram conduzidas em solução.

## ESTERIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS SEM CO-SOLVENTE

Foram usados seis ácidos graxos saturados com número par de carbono, C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub>, e dois ácidos insaturados, oléico e linoléico, todos com pureza acima de 99%. Em tubos de ensaio foram pesadas 0,02 moléculas-gramas de cada ácido juntamente com quantidade equivalente de glicerol. O ar foi removido com nitrogênio e os tubos

vedados foram agitados em banho de silicone a 180°C para um espaço de tempo de 0,5 a 10 horas. No produto da reação, os ácidos graxos livres foram determinados por titulação. Em todos os ensaios não se usou nenhum catalisador, nem a água de reação foi removida para se obter a melhor uniformidade de condições.

Como se pode observar pelos dados do Quadro 1, as quantidades de ácidos oléico, linoléico e esteárico esterificadas com quantidades equivalentes de glicerol, depois de tempos iguais, foram praticamente as mesmas. Com os outros ácidos, as quantidades esterificadas foram maiores. Contudo, essa discrepância era apenas aparente, visto tratar-se de concentrações molares diferentes. Para se ter a representação real do progresso da reação, foram calculadas as constantes de velocidade da esterificação, supondo que a reação era bimolecular e, que seguia a cinética de segunda ordem. Essa reação é apresentada pela conhecida equação:

$$K = \frac{1}{at} \frac{x}{a - x}$$

em que:

K = constante

a = concentração molar dos reagentes

x = mudança da concentração a no tempo t, em horas.

Porém, é difícil de se estabelecer a concentração de ácidos graxos, em moléculas-gramas por litro, no caso de misturas de ácidos graxos e glicerol a 180°C. Calculou-se, portanto, para cada ácido graxo, a concentração molar de ácidos graxos em 1.000 gramas de uma mistura equivalente de ácidos graxos e glicerol, usando-a em lugar da concentração molar a. Assim, K foi expresso como 1.000 g/moles horas. O Quadro 1 mostra essas constantes depois de uma hora de reação, podendo-se observar que as diferenças em velocidade



não foram consideráveis e estão dentro dos limites de erro experimental. Dêsse modo, a esterificação dos ácidos graxos investigados decorria com velocidade semelhante se as várias concentrações molares desses ácidos eram levadas em conta (a concentração molar de ácido caprílico, -C<sub>8</sub> -, é 5,7 em 1000 g de mistura equivalente de ácido graxo e glicerol, enquanto que a do ácido esteárico, -C<sub>18</sub> -, é 3,2).

### ESTERIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS COM CO-SOLVENTE

Considerou-se de interesse confirmar os resultados obtidos, procedendo-se às esterificações em solução. Dowtherm A, uma mistura eutética de 73,5% de óxido de difenila e 26,5% de difenila foi escolhida por causa de sua inércia e seu alto ponto de ebulição (250°C). Isso permitiu dispensar as altas pressões associadas com o uso de solventes voláteis e conduzir os experimentos sob pressão atmosférica.

Foram usadas soluções 0,1 molares dos ácidos graxos com quantidades equivalentes do glicerol. Nestas concentrações, o glicerol é solúvel em Dowtherm A a 180°C. Foram pesadas em tubos de ensaio 0,001 mol de cada ácido graxo e 0,00033 mol de glicerol, adicionando-se 10 ml de Dowtherm A, previamente desaerados com nitrogênio. Os tubos foram aquecidos em banho de silicone a 180°C durante 12-72 horas. Depois, as amostras foram dissolvidas em etanol e tituladas. Os resultados obtidos constam do Quadro 2.

A reação foi muito lenta e paralisou após 48 horas, provavelmente por causa da incompatibilidade entre solvente e soluto. Contudo, as esterificações ocorreram o suficiente para verificar-se que não havia diferenças apreciáveis entre a reatividade dos ácidos graxos investigados.



Quadro 1. Esterificação de vários ácidos graxos com quantidades equivalentes de glicerol a 180°C.

Ácido graxo	% de ácido graxo esterificado após:					Constante de velocidade k calculada para a reação após 1 hora
	1/2 h	1 h	3 h	5 h	10 h	
Caprílico	32,8	50,2	67,8	77,4	81,0	0,176
Capríco	32,7	48,4	68,1	76,3	81,3	0,190
Láurico	30,5	45,3	67,8	73,9	80,4	0,191
Mirístico	26,3	41,0	65,2	71,3	80,2	0,180
Palmitico	22,2	38,2	63,5	71,4	82,3	0,178
Estearico	19,5	35,1	61,8	65,4	75,7	0,171
Oléico	18,8	36,3	60,9	65,8	77,8	0,178
Linoléico	19,2	36,8	59,4	65,8	76,5	0,181

Quadro 2. Esterificação de vários ácidos graxos em solução 0,1 molar em Dowtherm A, com quantidades equivalentes de glicerol a 180°C.

Ácido graxo	% de ácido graxo esterificado após:			
	12 h	24 h	48 h	72 h
Caprílico	3,9	8,6	13,1	13,0
Capríco	4,3	9,1	13,6	14,1
Láurico	4,3	10,1	13,4	13,9
Mirístico	3,9	9,7	12,1	12,4
Palmitico	4,4	9,9	12,5	12,5
Estearico	4,6	8,8	12,4	12,4
Oléico	4,0	8,2	13,0	13,2
Linoléico	4,1	9,6	12,4	12,5

## LITERATURA

1. BISWAS, A.K. & GANGULY, D. Esterification of fatty acids with glycerol. Nature 188: 56-57, 1960.
2. GROS, A.T. & FEUGE, R.O. Preparation of partial glycerides by direct esterification. J. Am. Oil Chem. Soc. 41: 727-731, 1964.
3. HARTMAN, L. Miscibility of glycerol with fatty acids and glycerides. J. Am. Oil Chem. Soc. 40: 142, 1963.
4. WOCASEK, J.J. & KOCH, J.R. Fluoride catalysis at 175° of the reaction: glycerol plus fatty acid. J. Am. Oil Chem. Soc. 25: 335-337, 1948.

## MICROBIOLOGIA DO MILHO ENLATADO

Mauro F. de Freitas Leitão  
Fumio Yokoya  
Tobias J. B. Menezes

## RESUMO

*Cinco marcas comerciais de milho verde enlatado foram analisadas, procurando-se aquilatar, sob o aspecto microbiológico, as condições de seu processamento.*

*Do material em exame, foram isoladas seis culturas de bactérias esporuladas, mesófilas, anaeróbias facultativas do gênero Bacillus. Pela inoculação dessas culturas em meio de milho, apenas quatro apresentaram desenvolvimento a 30°C, tanto em condições aeróbias como anaeróbias. Nenhuma delas se desenvolveu a 55°C. Não foi constatada a presença de termófilos (Bacillus stearothermophilus, Clostridium thermosaccharolyticum e Cl. nigrificans) em nenhuma das amostras examinadas.*

*Os resultados permitiram evidenciar a ocorrência de subprocessamento em três das cinco marcas examinadas.*

## SUMMARY

*MICROBIOLOGY OF CANNED WHOLE GRAIN. Five commercially processed canned whole grain corn were examined microbiologically. Six mesophilic, facultative anaerobic, sporeforming bacilli were isolated from three of them. Four of the isolates grew in corn medium under aerobic and anaerobic conditions at 30°C, but not at 55°C.*



*Thermophilic bacilli* (*Bacillus stearothermophilus*, *Clostridium thermosaccharolyticum* and *C. nigrificans*) were absent in all the samples. Those results indicated that underprocessing conditions prevailed in three of the five examined brands.

## INTRODUÇÃO

A importância da avaliação das condições em que um processamento de alimentos é conduzido, realça-se, particularmente, no caso de produtos enlatados de larga aceitação, como o palmito, ervilha, milho, etc. Um estudo dessa natureza, representa uma contribuição no sentido de corrigir eventuais falhas na técnica de processamento, por parte das indústrias nacionais.

Estudos realizados com o palmito enlatado (4), revelaram haver condições deficientes de processamento, tendo sido constatada a presença de bactérias do gênero *Bacillus* em muitas das amostras examinadas. Idênticas conclusões foram alcançadas no estudo da ervilha enlatada (5), o que vem mostrar a necessidade do aprimoramento da técnica de processamento desses vegetais. O estudo microbiológico do milho verde enlatado, representa a continuação dos trabalhos no sentido de avaliar as condições com que se apresentam os produtos nacionais em conserva.

Esse produto, pelas suas características, mostra-se bastante suscetível à deterioração. Entre essas, destaca-se o seu pH pouco ácido (5,8-6,0), que permite o desenvolvimento de bactérias patogênicas, bem como de termófilos esporulados de grande resistência térmica. A presença de termófilos do tipo "flat-sour", bem como de *Clostridium nigrificans* (produtor de gás sulfídrico), tem sido constatada no milho enlatado (2, 3, 6).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os exames foram realizados em milho, verde (whole grain corn) enlatado ou em vidros, compreendendo seis amostras de cinco diferentes marcas, num total de 30 amostras. O material foi coletado ao acaso, em armazéns e supermercados da cidade de Campinas.

Para efeito de apresentação, as diferentes marcas são representadas pelas letras A,B,C,D,E, sendo que nas quatro primeiras, os produtos eram embalados em latas e, na última, em vidros (o peso bruto médio das amostras era de 500 gramas).

Das seis amostras de cada marca, três foram utilizadas para os exames microbiológicos e as demais para a medição do vácuo interno das latas ou dos vidros. Todas as seis amostras foram submetidas a exames de natureza complementar, compreendendo determinação do pH da salmoura, acidez total e concentração salina.

A acidez total foi determinada pela titulação com NaOH 0,1 N e a concentração salina pela titulação com  $\text{AgNO}_3$ , segundo o método apresentado por Binsted (1).

Também foram feitas observações quanto ao aspecto do produto, no que se refere à textura, coloração, presença de fragmentos da espiga, aspecto da salmoura, etc.

Os exames microbiológicos foram efetuados segundo as normas recomendadas pela "National Canners Association"(7) e pela "American Public Health Association"(6) para produtos não ácidos. A contagem de termófilos esporulados foi efetuada mediante o seguinte método: 20 gramas da amostra em exame foram adicionados em frascos Erlenmeyer de 150 ml, completando-se o volume a 100 ml com água destilada esterilizada. A seguir, aqueceu-se a 100°C por 5 minutos, completando-se novamente o volume a 100 ml.



1) Contagem de esporos de termófilos "flat-sour". Em 5 placas de Petri foram adicionados 10 ml do líquido acima, ou seja, 2 ml por placa. A seguir, adicionou-se o meio de glicose-triptona-bromocresol púrpura ágar, incubando-se a 55°C por 48 horas. A contagem das 5 placas x 5 = número de esporos de bactérias "flat-sour" em 10 g da amostra original.

2) Contagem de esporos de termófilos anaeróbios não formadores de gas sulfídrico. 20 ml da solução acima foram adicionados em 6 tubos contendo meio de extrato de fígado. O material foi incubado a 55°C durante 72 horas, sendo o resultado expresso pelo número de tubos apresentando desenvolvimento de bactérias.

3) Contagem de esporos termófilos anaeróbios produtores de gas sulfídrico. 20 ml da amostra foram adicionados em 6 tubos contendo meio de sulfito ágar. O material foi incubado a 55°C durante 72 horas. A contagem de colônias típicas nos 6 tubos x 2,5 = número de esporos em 10 g da amostra original.

As bactérias isoladas nos diversos exames, após prévia identificação, foram reinoculadas em tubos de ensaio (200 x 22 mm) contendo meio simples de milho. Esse meio foi preparado com 20 g de milho verde, acrescido de 10 ml de água destilada e esterilizado a 121°C por 15 minutos.

As culturas foram incubadas em condições aeróbias e anaeróbias, e nas temperaturas de 30 e 55°C, durante 7 dias.

A anaerobiose foi obtida pela remoção do oxigênio dissolvido no meio, pelo aquecimento a 100°C por 15 minutos; após rápido resfriamento, foi feita e inoculação das culturas, estratificando-se, a seguir, com vaspar.



## RESULTADOS

Os resultados dos exames efetuados encontram-se nos Quadros de 1 a 3.

As diferentes amostras apresentaram valores médios de pH variando de 5,78 a 6,75 e acidez total de 0,0870% a 0,095%.

A concentração salina oscilou entre 0,86 e 1,47%. O vácuo interno das latas mostrou-se satisfatório nos produtos A e E, com valores de 10 e 18 (expresso em polegadas de mercúrio), ao passo que nas marcas B e D, êle foi excessivamente baixo.

O aspecto do produto foi superior nas marcas A e E, ao passo que, em B e C, êle se revelou bastante inferior, pela presença de fragmentos da espiga, corte irregular dos grãos, desuniformidade na textura e coloração, e na excessiva turvação da salmoura.

De amostras dos ensaios A, C e D, foram isoladas bactérias esporuladas, mesófilas, do gênero *Bacillus*, num total de seis diferentes culturas. A caracterização dessas bactérias consta do Quadro 2.

Pela inoculação em meio simples de milho, quatro bactérias apresentaram desenvolvimento a 30°C, tanto em condições aeróbias como anaeróbias, ao passo que duas delas, não se desenvolveram em nenhuma condição (Quadro 3). A presença de bactérias esporuladas termófilas (*Bacillus stearothermophilus*, *Clostridium thermosaccharolyticum* e *Cl. nigrificans*) não foi constatada em qualquer das amostras em observação.

## CONCLUSÃO E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através do exame microbiológico, revelaram os seguintes aspectos:

Quadro 1 Exames preliminares dos produtos em observação

Produto	Vácuo (Polegada de Hg)	pH	Acidez total (% ácido cítrico)	Sal (% NaCl)	Aspecto do produto
A	1	9	0,064	0,93	Bom; produto uniforme na coloração e textura dos grãos. Salmoura limpa; ausência de fragmentos de espiga no produto
	2	9	0,076	0,70	
	3	12	0,102	1,14	
	4	-	0,064	0,77	
	5	-	0,102	0,90	
	6	-	0,121	0,74	
Media	10	5,95	0,088	0,86	
B	1	4	0,089	1,48	Mau aspecto; produto desuniforme na coloração, na textura, e no corte dos grãos. Salmoura turva; presença de fragmentos da espiga no produto
	2	2	0,089	1,49	
	3	4	0,089	1,48	
	4	-	0,089	1,53	
	5	-	0,083	1,49	
	6	-	0,083	1,35	
Media	3,3	6,20	0,087	1,47	
C	1	5,5	0,096	1,37	Mau aspecto; desuniformidade na textura e no corte dos grãos. Salmoura turva; presença de fragmentos da espiga
	2	5,5	0,076	1,20	
	3	5,5	0,115	1,40	
	4	-	0,083	1,20	
	5	-	0,121	1,28	
	6	-	0,070	1,40	
Media	6,8	6,75	0,093	1,30	
D	1	2	0,089	1,68	Aspecto regular; uniformidade na coloração e textura e desuniformidade no corte dos grãos. Salmoura turva; ausência de fragmentos da espiga
	2	0	0,096	1,39	
	3	0	0,096	1,70	
	4	-	0,096	1,34	
	5	-	0,089	1,33	
	6	-	0,102	1,34	
Media	0,6	6,08	0,094	1,46	
E	1	18	0,096	0,85	Bom; produto uniforme na coloração, textura e corte dos grãos. Salmoura limpa; sem fragmentos da espiga no produto
	2	15	0,083	0,85	
	3	20	0,089	0,82	
	4	-	0,096	0,93	
	5	-	0,096	0,84	
	6	-	0,110	0,87	
Media	17,6	5,78	0,095	0,86	



Quadro 2 Caracterização dos microrganismos isolados

Produto	Exigência a temperatura			Gênero	Características dos microrganismos
	30°C	37°C	55°C(*)		
Produto A - lata 4	++	++	+	Bacillus sp 1	Bactérias em bastonete, esporuladas, móveis Gram-positivas, anaeróbias facultativas. Em meio líquido e glicose-triptona, caracterizando-se por formação de película e acidificação. Crescimento intenso em 24 horas em nutriente ágar e glicose triptona ágar.
Produto A - lata 5	+	+	-	Bacillus sp 2	Bactérias em bastonete, móveis, esporuladas, e aeróbias. Em meio líquido de glicose-triptona, caracterizando-se pela intensa produção de ácido sem formação de película. Crescimento lento e leve em nutriente ágar e glicose triptona ágar.
Produto C - lata 5	++	++	-	Bacillus sp 3	Bactérias em bastonete, esporuladas, móveis, Gram-positivas, anaeróbias facultativas. Em meio líquido de glicose-triptona, caracterizando-se pela formação de película e acidificação. Crescimento intenso e rápido em nutriente ágar e glicose triptona ágar.
Produto C - lata 6	++	++	-	Bacillus sp 4	Bactérias em bastonete, esporuladas, móveis, Gram-positivas, anaeróbias facultativas. Em meio líquido de glicose-triptona, caracterizando-se pela intensa produção de ácido, sem formação de película. Crescimento rápido em nutriente ágar e glicose triptona ágar.
Produto C - lata 6	++	++	-	Bacillus sp 5	Bactérias em bastonete, esporuladas, móveis, Gram-positivas, anaeróbias facultativas. Em meio líquido de glicose-triptona, há formação de película e pequena produção de ácido. Crescimento intenso em nutriente ágar e glicose triptona ágar.
Produto D - lata 4	+	+	-	Bacillus sp 6	Bactérias em bastonete, esporuladas, móveis, Gram-positivas e aeróbias. Em meio líquido de glicose-triptona, sem formação de película, havendo produção de ácido. Crescimento lento e muito leve em nutriente ágar e glicose triptona ágar.

(\*) Incubação em banho-maria; Crescimento não observado após 72 horas de incubação,  
+ Crescimento leve após 72 horas de incubação; ++ Crescimento intenso após 72 horas de incubação



Quadro 3. Desenvolvimento dos microrganismos isolados em meio de milho (após 7 dias de incubação).

Microrganismos	Condições aeróbias		Condições anaeróbias	
	30°C	55°C	30°C	55°C
<u>Bacillus</u> sp				
1	+	-	+	-
2	-	-	-	-
3	+	-	+	-
4	+	-	+	-
5	+	-	+	-
6	-	-	-	-

+ - Crescimento observado.  
 - - Ausência de crescimento.

1) Ausência de sinais evidentes de deterioração, caracterizados por alterações no aspecto e aroma do produto.

2) Ausência de bactérias esporuladas termófilas.

3) Presença, em algumas amostras, de bactérias mesófilas capazes de se desenvolverem no meio de milho, tanto em condições aeróbias como anaeróbias.

Isto indica que o tratamento térmico foi insuficiente para provocar a destruição dos esporos dessas bactérias, evidenciando-se a condição de "sub-processamento" nessas amostras.

A ausência de sinais visíveis de deterioração nestes produtos, poderia ser explicada pelo fato de os esporos permanecerem no estado de dormência, não havendo possibilidade de germinação, embora o meio fôsse propício ao desenvolvimento vegetativo.

Pela inoculação do material em exame, em meio de triptona e glicose, os esporos germinaram e o desenvolvimento prosseguiu normalmente, mesmo no meio de milho.

4) Algumas das culturas isoladas não apresentaram desenvolvimento no meio de milho, sob quaisquer das condições, podendo tal fato ser atribuído à carência de nutrientes essenciais no meio.

## LITERATURA

1. BINSTED, R., DEVEY, J.D. & DAKIN, L.C. Pickle and sauce making. Food Trade Press Ltd. London, England, 2nd, 1962.
2. GILLESPIE, T.C. & THORPE, R.H. Occurrence and significance of thermophiles in canned foods. J. Appl. Bacteriol. 31: 59-65, 1968.
3. HERSON, A.C. & HULLAND, E.D. Canned foods. Chemical Publishing Company, Inc., N.Y., U.S.A., 1964.
4. MENEZES, T.J.B. & LEITÃO, M.F.F. Estudo comparativo do palmito enlatado. Ciência e Cultura, 19: 291, 1967.
5. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. Estudo comparativo da ervilha enlatada (Resumo). Ciência e Cultura, 19: 291, 1967.
6. SHARF, J.M. Recommended methods for the microbiological examination of foods. Amer. Public Health Assn., Inc., N.Y., U.S.A., 2nd, 1966.
7. TOWNSEND, C., SOMERS, L. & LAMB, F. A laboratory manual for the canning industry. National Canners Assn., Washington D.C., U.S.A., 1957.
8. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. United States Standards for grades of canned whole kernel or whole grain corn. United States Department of Agriculture. Washington, D.C., U.S.A., 1952.



## DETERMINAÇÃO DA BEBIDA DE CAFÉ "RIADA" \*

Ruth S. Garruti  
Leda M. Pupo  
Aldir A. Texeira  
Luiz Sérgio P. Pereira

### RESUMO

No presente trabalho, os autores realizaram um estudo com a finalidade de determinar o limite mínimo de percepção absoluta para a bebida de café "riada".

A classificação de todo e qualquer produto é feita, sempre que possível, em comparação com um padrão de qualidade do produto em questão. No caso específico da bebida de café, o emprego de padrões de qualidade se faz ainda mais necessário, particularmente quando se pretende realizar treinamento de provadores, com ou sem experiência prévia, ou quando a bebida que se procura caracterizar é do tipo "riada".

O material utilizado no estudo era constituído de padrões das bebidas "rio" e "mole", ligados em seis diferentes proporções, totalizando, assim, doze tratamentos. O delineamento estatístico adotado foi um "lattice" retangular 3x4.

O método estatístico-sensorial aplicado foi o da escala descritiva, tendo-se empregado duas técnicas de avaliação sensorial, a saber: a padronizada no Laboratório de Análise Sensorial, do Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos-CTPTA; e a tradicionalmente utilizada pelo Instituto Brasileiro de Café-CETRECAFÉ.

---

(\*) Trabalho apresentado na XX Reunião Anual da SBPC, realizada em São Paulo, em julho de 1968

Os resultados obtidos, médias de 72 determinações por tratamento, demonstraram que o limite mínimo de percepção à bebida "riada" correspondeu à mistura contendo 10% de café de bebida "rio" (paulista) e 90% de café de bebida "mole", para ambas as técnicas de avaliação sensorial empregadas.

## SUMMARY

DETERMINATION OF THE "SLIGHTY RIO" FLAVOR COFFEE BEVERAGE. The aim of this work was to establish the threshold for the "slightly rio" flavor coffee beverage, one of the most difficult to be characterized.

For that purpose six different proportions of the types "soft" and "rio" coffee beverages were made up. The sensory evaluation was carried out according to a descriptive scale for coffee beverage classification, previously established as "strictly soft", "soft", "softish", "hard", "slightly rio", and "rio", following a 3x4 rectangular lattice design. Two techniques of sensory evaluation were employed, one developed at the "Laboratório de Análise Sensorial" of "Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos", and the other traditionally used by the "Instituto Brasileiro do Café".

Average data of 72 determinations per sample show that the threshold for the "slightly rio" coffee beverage was found to be for 10% "rio" and 90% "soft" coffee beverage blending.

## INTRODUÇÃO

Ligar cafés de diferentes bebidas é, ainda hoje, prática comum dos comerciantes de café. Segundo Tosello (1962), a operação de "blending" ou mistura de



café de diferentes bebidas para formar um lote uniforme, é efetuada, em geral, nos armazéns dos portos de embarque.

A preferência de alguns mercados de importação, a conveniência de escoamento de cafés tipos baixos e a necessidade de serem formados grandes lotes de café de bebida uniforme, entre outros fatores, determinaram que a prática das ligas de café se tornasse uma operação de rotina. Contudo, poucos foram os estudos realizados no sentido de se estabelecer os limites das misturas para obtenção de uma determinada bebida, quando da formação de um lote de café, sem que haja uma depreciação da qualidade, apesar de que, na comercialização do café, o bom negócio depende muito da formação de uma boa liga.

Rogério e Queiróz (1), afirmaram, em 1953, que um café do tipo 2, isto é, com uma quantidade mínima de defeitos (4 defeitos), porém de bebida "rio", vale tanto quanto o tipo 7, com elevada porcentagem de defeitos (160 defeitos), desde que este apresente bebida suave ou "mole", isto é, com as credenciais de qualidade comuns aos cafés de "zonas boas".

A determinação da qualidade da bebida do café é feita, principalmente, por meio dos órgãos dos sentidos do gosto, olfato e tato, que são variáveis de indivíduo para indivíduo, motivo por que a caracterização de uma bebida se torna difícil. Há provadores de café que possuem alta sensibilidade gustativa, porém, não constituem a maioria. Somente com um grande número de provas e uma equipe de provadores selecionada e treinada, é que se pode caracterizar adequadamente a bebida de um determinado café.

Observam-se, ainda hoje, grandes divergências quanto às classificações das bebidas de café, particularmente em relação aquela conhecida por "riada". Há falta de uma padronização internacional, que poderia contribuir muito para a comercialização do café.



## MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução do ensaio foram utilizados cafês de bebidas padrão "mole" e "rio", originários da Estação Experimental de Ribeirão Preto e de Bragança Paulista, respectivamente.

Os tratamentos compreenderam as seguintes proporções de misturas das bebidas "mole" e "rio", com repetição para cada técnica de avaliação sensorial empregada, além de uma amostra extra X, variável em cada prova:

Tratamento	Técnica de avaliação sensorial	Proporção da mistura	
		"mole" %	"rio" %
4	CTPTA (Rep. I)	100,0	0,0
6	" "	97,5	2,5
9	" "	95,0	5,0
7	" "	92,5	7,5
3	" "	90,0	10,0
5	" "	87,5	12,5
10	CETRECAFÊ (Rep. II)	100,0	0,0
2	" "	97,5	2,5
11	" "	95,0	5,0
8	" "	92,5	7,5
12	" "	90,0	10,0
1	" "	87,5	12,5

X - Amostra extra, variável em cada prova.  
O delineamento estatístico adotado foi um "lattice" retangular 3x4.

## RESULTADOS

No Quadro 1 estão indicados os resultados obtidos, médias de 72 determinações, com as diferentes misturas estudadas de bebidas "rio" e "mole", para cada repetição e segundo as técnicas de avaliação sensorial empregadas.

Quadro 1. Resultados da avaliação sensorial da qualidade da bebida do café com diferentes ligas de "mole" e "rio", segundo os métodos do CTPTA e CETRECAFÊ.

Porcentagens de "rio" nas misturas	CTPTA		CETRECAFÊ	
	Rep. I	Rep. II	Rep. I	Rep. II
0,0%	2,39	2,95	3,67	3,33
2,5%	3,00	3,12	3,25	3,51
5,0%	2,19	1,91	2,95	3,00
7,5%	1,54	1,67	2,74	3,06
10,0%	1,26	1,08	1,54	1,87
12,5%	1,52	0,97	1,80	2,32

Nas Figuras 1 e 2 estão representados os gráficos da relação linear e as respectivas equações de regressão dos valores obtidos na classificação e as porcentagens de "rio" nas misturas, segundo a técnica de avaliação sensorial padronizada no CTPTA e no CETRECAFÊ.

## CONCLUSÕES

a) Com o aumento da proporção de café bebida "rio" na mistura, houve, de modo geral, um decréscimo linear nos pontos relacionados com a classificação das bebidas, o que mostra ter a equipe apresentado percepção sensorial à bebida "rio".

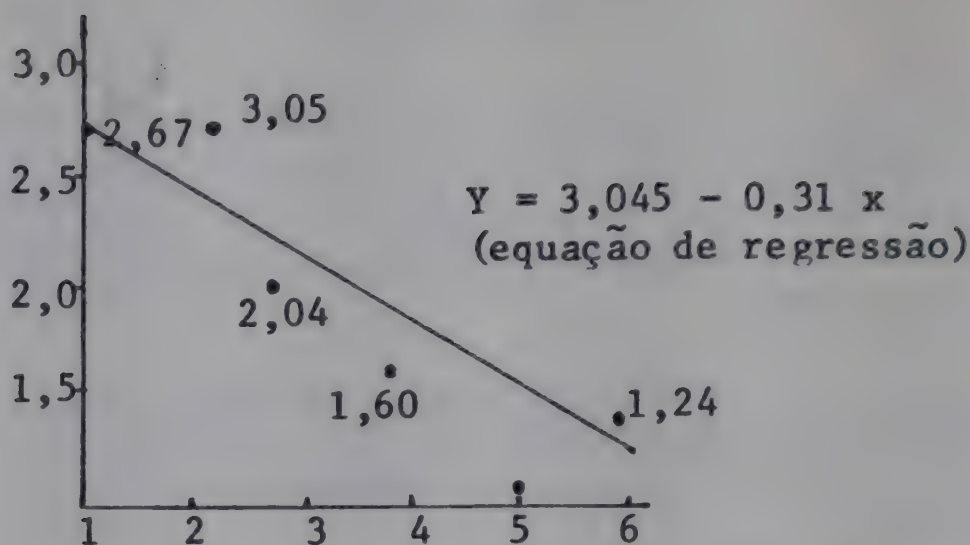


Fig. 1. Relação linear entre os valores obtidos na classificação da bebida, segundo a técnica padronizada no Laboratório de Análise Sensorial do CTPTA, e as porcentagens de "rio" nas misturas.

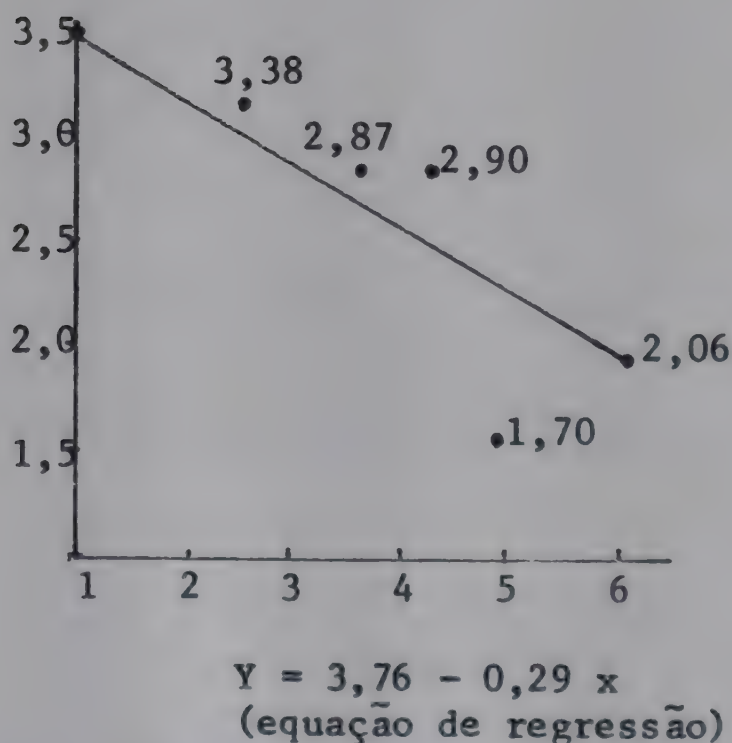


Fig. 2. Relação linear entre os valores obtidos na classificação da bebida, segundo a técnica tradicional empregada pelo IBC, e as porcentagens de "rio" nas misturas.



b) A mistura de 10% de café "rio" alcançou um valor médio mais próximo ao da bebida "riada", do que a mistura de 12,5%, em ambas as técnicas de avaliação sensorial empregadas.

## LITERATURA

1. CAMARGO, R. & QUEIRÃOZ TELLES, A. O café no Brasil - Sua aclimação e industrialização. Série Estudos Brasileiros, Vol. 11, nº 4, SIA - Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, 720 p., 1953.
2. COSTA, A.S. Modernos conhecimentos sobre o gosto do café. A Fazenda, nov., 42-43, 1946.
3. GARRUTI, R.S. & CONAGIN, A. Escala de valores para a avaliação da qualidade da bebida do café. Bragantia 18: 557-562, 1961.
4. TOSELLO, A. Preparo do Café. Curso de Economia Cafeeira. Tomo I, Instituto Brasileiro do Café, 1962.



## INFLUÊNCIA DO GRAU DE TORRAÇÃO SÔBRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO CAFÉ \*

L. A. Fobé  
J. P. Nery  
J. S. Tango

### RESUMO

*Foi estudado o efeito causado pela torração sôbre certos elementos do grão de café verde tipo Santos. Entre outros, os teores de cafeína, açúcares totais, sólidos solúveis totais, graxas e proteínas.*

*Foram considerados seis níveis diferentes de torração, baseados sôbre a perda de peso em porcentagem. Esses graus eram: 10, 12, 14, 16, 18 e 20% de perda em relação ao café verde. Foram igualmente observados os diferentes aumentos de volume provocados pela torração.*

*A cafeína e as proteínas diminuíram com o aumento da torração.*

*Os açúcares totais aumentaram, inicialmente, depois diminuíram até o nível de 16% e atingiram, em seguida, uma concentração constante.*

*Os sólidos solúveis totais diminuíram progressivamente, apresentando uma etapa intermediária ao nível de 14%, depois aumentaram, finalmente, no último estado.*

*As graxas apresentaram um forte aumento em todos os graus de torração empregados.*

---

(\*) Trabalho apresentado no "Troisième Colloque International sur la chimie des cafés," Trieste, 1967. Tradução de J.C. Medina.



## SUMMARY

INFLUENCE OF THE ROASTING DEGREE ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF COFFEE. A study has been made of the effects of roasting on certain constituents of the raw beans of Santos coffee; among others, the contents in caffeine, total sugars, total soluble solids, fats and proteins.

The experiment included six different degrees of roast, based on percentage loss in weight; these were 10, 12, 14, 16, 18 and 20% loss in weight in relation to the raw coffee. The various increases in volume caused by roasting were also noted.

Caffeine and protein become less with increased roasting.

The total sugars first of all increase, then diminish up to the 16% level and afterwards reach a constant concentration.

The total soluble solids progressively diminish, reach an intermediate stage at 14%, then finish up by increasing up till the last stage.

The fats show a considerable increase for all the degrees of roast employed.

## INTRODUÇÃO

Na literatura disponível sobre a química de café, podem ser encontrados alguns trabalhos experimentais sobre as variações que ocorrem nos diferentes componentes do café, quando submetido a uma diferente intensidade de torração dos valores conhecidos.

Encontram-se, comumente, dados químicos analíticos sobre o café torrado, sem qualquer referência ao mais importante, que é o "grau de torração", expresso em termos de perda de peso em relação ao café não tor-

rado. A torração clara, a torração escura e outras denominações, usadas normalmente, não têm qualquer valor para diferenciar as diferentes amostras.

No presente trabalho, tentou-se estudar as modificações que ocorrem em alguns componentes do café, quando submetido a diferentes graus de torração (expresso em perda de peso por 100 g de café beneficiado), tendo em vista, principalmente, a obtenção de dados de interesse à indústria de café instantâneo.

Sendo a perda de peso pela torração, o único ponto de conexão entre as amostras de café beneficiado e torrado, os autores recomendam que, em trabalho de pesquisa, a perda deverá ser sempre expressa ou, se possível, fixada, para servir como especificação objetiva da amostra de café torrado.

Os autores esperam estudar, no futuro, em complemento ao presente trabalho, a variação em outros componentes do café, tais como: trigonelina, ácido clorogênico, ácido cafêico, ácido cafetânico, etc.

MATERIAL E MÉTODO

A matéria-prima usada nesta pesquisa era da espécie *Coffea arabica*, colheita de 66/67, fornecida pela Cooperativa dos Cafeicultores da Região de Campinas, localizada em Campinas, Estado de São Paulo, Brasil. Os grãos de café foram secados ao sol e beneficiados, dando as seguintes especificações comerciais:

Tipo	.....	Santos 2/3
Peneira	.....	17/18
Bebida	.....	mole
Torrção	.....	boa
Côr	.....	verde



Esse material apresentava a seguinte composição química:

Umidade .....	11,50%
Sólidos solúveis .....	28,45%
Açúcares totais (glicose) ....	5,45%
Cafeína .....	1,26%
Proteína (N x 6,25) .....	12,28%
Extrato etéreo .....	14,79%

As amostras foram torradas num forno de carne "Grill Span de Luxe" (Sociedade Paulista de Artefatos Metalúrgicos S.A., São Paulo, Brasil) montado com um cilindro rotativo perfurado, adequado para torrar sementes e grãos, com uma capacidade total de 1.000 g por amostra.

Para obter uma amostra suficiente para todas as determinações analíticas, usaram-se 800 g de grãos de café verde para cada torração. No centro do torrador vazio, a temperatura atingia cerca de 230°C e a rotação do cilindro com carga de café verde era de 7 r.p.m. Não era possível tomar a temperatura interior do cilindro perfurado, o qual ficava completamente fechado

A Figura 1, dá uma idéia da curva de torração, com o torrador acima mencionado.

Após a torração, foram determinadas no café torrado frio, em relação ao café beneficiado, a perda em peso - o volume aumenta - o peso por hectolitro e o volume de 100 quilos. Isto poderá ser apreciado pelos dados do Quadro 1.

As amostras foram moídas em moinho de laboratório fabricado no Brasil (Rod-Bel S.A., São Paulo, Brasil), regulado para granulação média, passadas em peneira de 30 "mesh". O café moído, após peneiragem, foi conservado em sacos de plástico para análises imediatas.



Quadro 1. Algumas características do café.

	Perda de pêso %	Aumento de volume	Pêso por hectolitro	Volume 100kg/1
A - 1	9,87	10,54	59,22	168,86
2	9,87	17,02	55,94	178,76
3	10,12	20,76	54,21	184,47
4	10,50	19,89	54,60	183,15
Média	10,09	17,05	55,99	178,81
B - 1	11,62	21,79	53,75	186,05
2	12,12	43,91	45,49	219,83
3	12,12	34,51	48,67	205,47
4	12,37	33,19	49,15	203,46
Média	12,06	33,35	49,26	203,70
C - 1	13,62	82,91	35,79	279,41
2	14,00	57,63	41,53	240,79
3	14,37	58,89	41,20	242,72
4	14,50	83,52	35,67	280,35
Média	14,12	70,74	38,55	260,82
D - 1	15,75	98,55	32,97	303,31
2	16,75	89,64	34,52	289,69
3	16,45	97,47	33,15	301,66
4	16,45	101,67	32,46	308,07
Média	16,22	96,83	33,27	300,68
E - 1	17,50	97,30	33,18	301,39
2	17,62	98,25	33,02	302,85
3	18,31	113,23	30,70	325,73
4	18,37	112,75	30,77	324,99
Média	17,95	105,38	31,92	313,74
F - 1	19,50	122,13	29,47	339,33
2	19,62	128,97	28,59	349,77
3	20,18	117,19	30,14	331,78 •
4	20,31	134,47	27,92	358,17
Média	19,90	125,69	29,03	344,76
Café verde	-	-	65,46	152,76

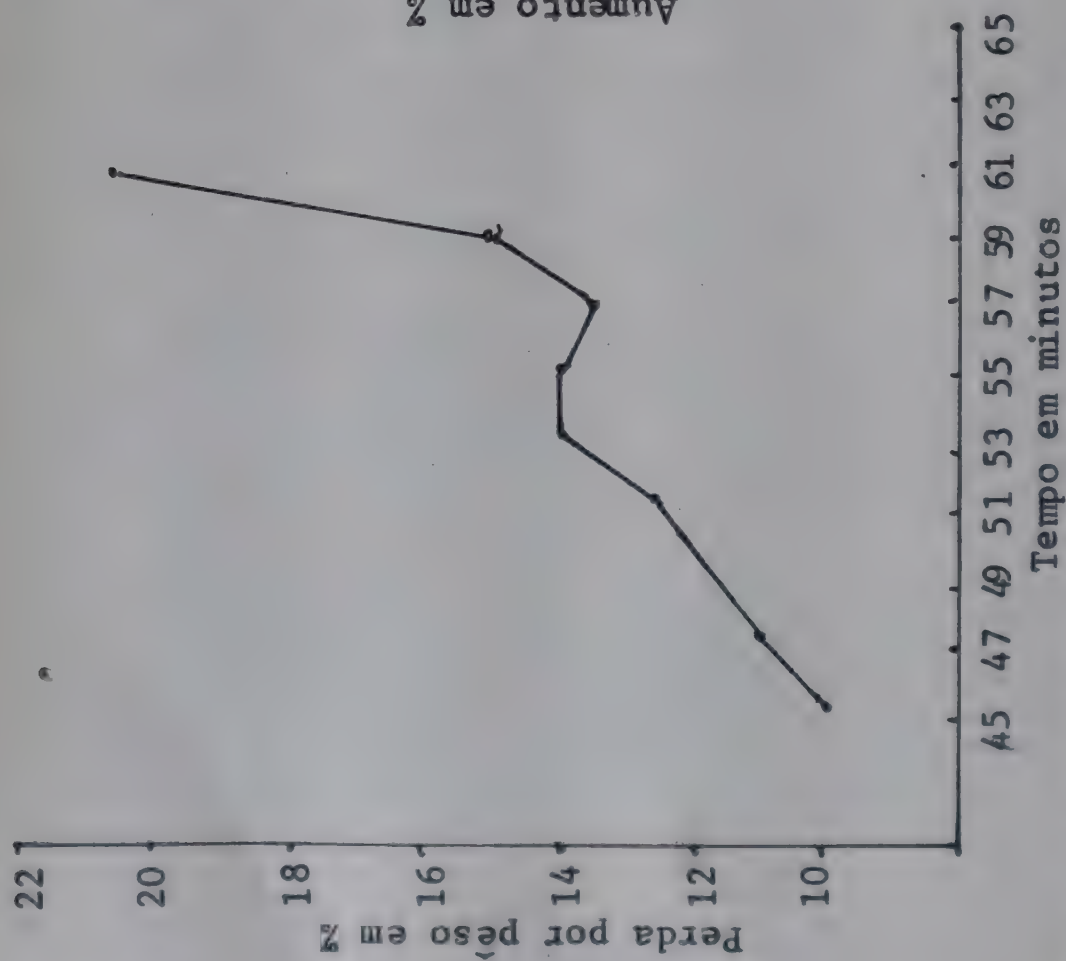


Fig. 1. Curva de torração de grãos de café verde.

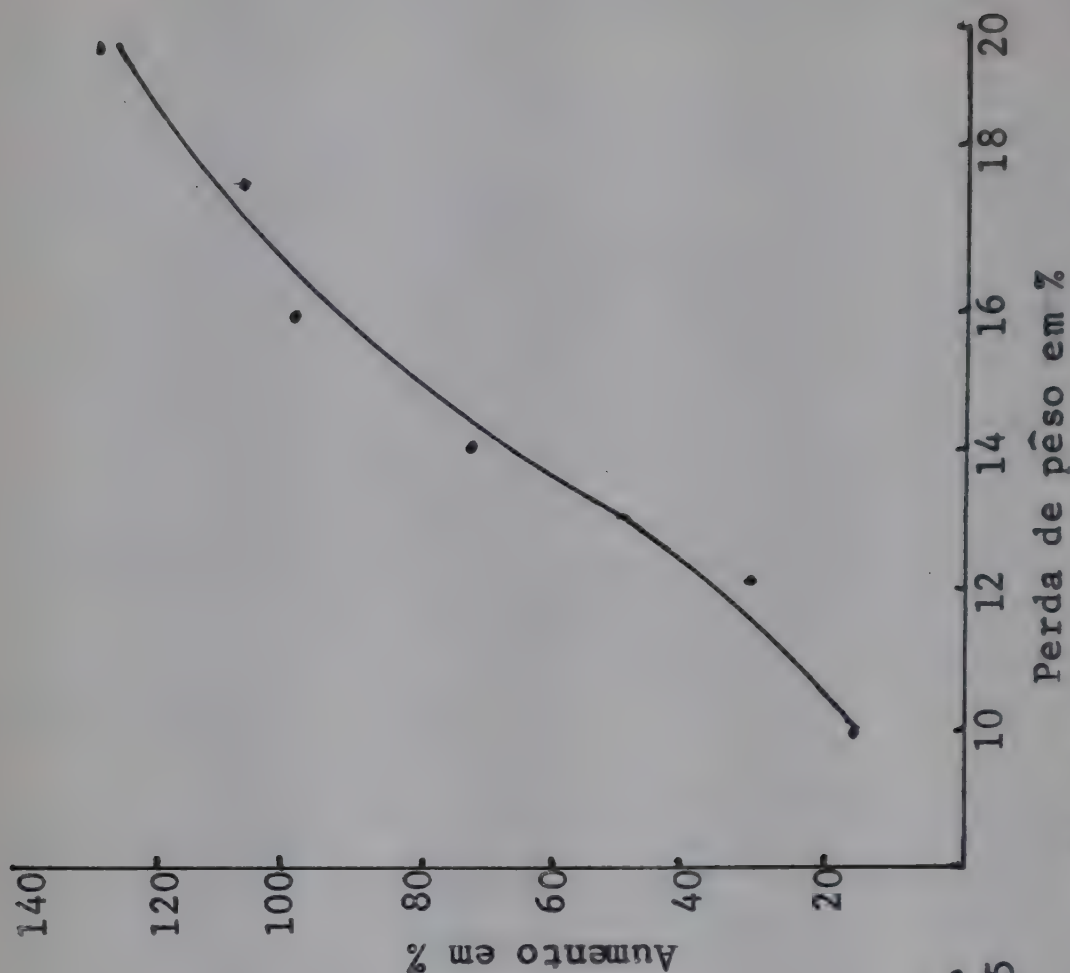


Fig. 2. Influência da torração em volume baseada nos grãos de café verde.

Desta maneira, foram obtidas 24 amostras distribuídas em seis grupos de quatro amostras cada uma, designadas pelas letras A, B, C, D, E e F, com as seguintes perdas de peso pela torração, respectivamente: 10,09, 12,06, 14,12, 16,22, 17,95 e 19,90%.

Nas amostras acima e nas amostras de café verde, foram feitas as seguintes determinações:

1. Umidade - método da A.O.A.C. (1).
2. Sólidos solúveis - método de Jacober e Staub (3).
3. Açúcares totais - método da A.O.A.C. (1).
4. Cafeína - método de Ishler, Finucane e Borker (2).
5. Proteína - método de A.O.A.C. (1).
6. Extrato etéreo - método de W. Stoldt e M. Weibull (7).

Para completar o presente trabalho, foram procedidas as seguintes determinações sobre o óleo das amostras de café verde e torrado: ácidos graxos - os ácidos graxos livres - a matéria insaponificável e o número de peróxido.

## RESULTADOS

Os dados obtidos podem ser apreciados pelos Quadros 3, 4 e 5 e Gráficos 3 a 8.

Com base nas médias obtidas, as variações ocorridas foram as seguintes:

### No café torrado

O conteúdo máximo de umidade (4,34%) ocorreu na amostra A e o mínimo (1,78%) na amostra E.

Em relação aos sólidos solúveis, o conteúdo máximo (24,38%) ocorreu na amostra A, e o mínimo (21,40%) na amostra E.



Quanto aos açúcares totais, o conteúdo máximo (7,75%) ocorreu na amostra A, e o mínimo (3,27%) na amostra D.

O conteúdo máximo (1,39%) de cafeína, foi observado na amostra A, enquanto que o mínimo (1,25%), na amostra F.

Em relação à proteína, o conteúdo máximo (13,22%) foi observado na amostra F, ao passo que o mínimo (12,86%), na amostra A.

Quanto ao extrato etéreo, obteve-se um máximo de 18,16% na amostra F, e um mínimo de 15,70%, na amostra A.

Com o pêso por hectolitro, o máximo, de 55,99 kg, foi obtido na amostra A, e o mínimo de 29,03 kg na amostra F, contra 65,45 kg para os grãos verdes de café.

Sobre o volume de 100 kg de café torrado, o máximo de 344,76 litros foi obtido na amostra F, e o mínimo, de 178,81 litros, na amostra A, contra 152,76 litros, para os grãos de café verde.

Em relação aos ácidos graxos livres, o conteúdo máximo de óleo (3,06%) foi observado na amostra F e o mínimo (1,39%), na amostra A; a amostra de café verde, por outro lado, deu um valor de 1,11% de ácidos.

No que concerne à matéria insaponificável, foi observado o máximo de 10,77% no óleo da amostra A, e um mínimo de 9,25% no óleo da amostra E, enquanto que a amostra de café verde mostrou um valor de 11,00%.

Em relação ao número peróxido do óleo das amostras torradas, obteve-se o valor zero, enquanto que para o óleo de café verde foi registrado o valor de 3,92.

Finalmente, em relação aos ácidos graxos do óleo, foi constatada a predominância do ácido linoléico contra todos os demais ácidos, seguindo-se pelo ácido palmítico e, em menor quantidade, o mirístico.

### No café verde

A perda em peso, por torração, era, respectivamente, de 10,09, 12,06, 14,12, 16,22, 17,95 e 19,90% nas amostras A, B, C, D, E e F.

O aumento de volume mostrou o máximo (125,69%) na amostra F, e o mínimo na amostra A (17,05%).

A perda máxima de umidade (87,27%), foi obtida com a amostra E, quando a perda mínima foi obtida com a amostra A (66,05%).

Em relação aos sólidos solúveis, o máximo de perda (38,27%) foi encontrado na amostra E, enquanto que o mínimo de perda ocorreu com a amostra A (22,96%).

Com os açúcares totais, o aumento máximo foi observado na amostra A (27,83%), e o aumento mínimo (3,21%) na amostra B, enquanto que a perda máxima (49,75%), apareceu na amostra D, e a perda mínima (34,7%) na amostra C.

Quanto à cafeína, a perda máxima (20,49%) ocorreu na amostra F, e a mínima na amostra A (0,53%).

A proteína teve sua perda máxima (13,76%) na amostra F, e a mínima na amostra A (5,87%).

Finalmente, em relação ao extrato etéreo, a perda máxima foi observada na amostra A (4,56%), e a mínima na amostra C (0,38%).



**Quadro 2.** Composição química do café torrado e aumento ou redução de seus componentes em relação ao café verde.

Amostra	Perda de pêso de torração	Umidade	Aumento ou redução	Sólidos solúveis	Aumento ou redução	Açúcares totais	Aumento ou redução	Cafeína	Aumento ou redução	Proteína	Aumento ou redução	Extrato Etéreo	Aumento ou redução
A - 1	9,87	4,59	- 64,03	24,95	- 20,99	8,69	+ 43,64	1,51	+ 7,86	12,86	- 5,65	15,27	- 7,00
A - 2	9,87	4,12	- 67,71	24,09	- 23,72	8,65	+ 42,98	1,45	+ 3,58	13,04	- 4,33	15,62	- 4,87
A - 3	10,12	4,70	- 63,28	24,42	- 22,87	7,52	+ 23,89	1,43	+ 2,14	12,68	- 7,24	15,77	- 4,19
A - 4	10,50	3,96	- 69,18	24,07	- 24,26	6,14	+ 0,82	1,19	- 15,60	12,86	- 6,27	16,16	- 2,18
Média	10,09	4,34	- 66,05	24,38	- 22,96	7,75	+ 27,83	1,39	- 0,53	12,86	- 5,87	15,70	- 4,56
B - 1	11,62	3,25	- 75,02	24,02	- 25,36	6,79	+ 10,23	1,19	- 16,78	12,68	- 8,71	16,51	- 1,32
B - 2	12,12	3,90	- 70,21	23,38	- 27,79	5,96	- 3,87	1,46	+ 2,10	13,04	- 6,66	16,93	+ 0,59
B - 3	12,12	3,19	- 75,63	23,34	- 27,92	5,89	- 5,00	1,42	- 0,70	13,04	- 6,66	16,40	- 2,55
B - 4	12,37	3,53	- 73,09	22,88	- 29,51	6,95	+ 11,74	1,45	+ 0,70	13,04	- 6,92	16,86	- 0,12
Média	12,06	3,47	- 73,49	23,40	- 27,64	6,40	+ 3,27	1,38	- 3,66	12,95	- 7,24	16,57	- 0,85
C - 1	13,62	3,37	- 74,70	22,32	- 32,26	4,86	- 22,98	1,32	- 9,59	13,04	- 8,30	17,27	+ 0,82
C - 2	14,00	3,17	- 76,29	22,04	- 33,39	4,76	- 24,92	1,30	- 11,56	13,16	- 7,87	17,11	- 0,52
C - 3	14,37	3,28	- 75,58	22,21	- 33,16	3,46	- 45,68	1,28	- 12,93	12,86	- 10,32	17,08	- 1,10
C - 4	14,50	3,36	- 75,02	23,20	- 30,31	3,49	- 45,30	1,26	- 14,29	13,04	- 9,26	17,18	- 0,69
Média	14,12	3,29	- 75,40	22,44	- 32,28	4,14	- 34,72	1,29	- 12,09	13,02	- 8,93	17,16	- 0,38
D - 1	15,75	1,91	- 86,01	23,43	- 30,62	3,45	- 46,92	1,27	- 15,33	12,86	- 11,80	17,09	- 2,68
D - 2	16,25	2,28	- 83,39	22,37	- 34,15	3,18	- 51,15	1,29	- 14,00	13,40	- 8,59	17,18	- 2,72
D - 3	16,45	2,08	- 84,89	23,27	- 31,66	3,23	- 50,46	1,34	- 11,26	13,04	- 11,29	17,17	- 2,99
D - 4	16,45	2,52	- 81,70	23,51	- 30,95	3,23	- 50,46	1,34	- 11,26	13,04	- 11,29	16,61	- 6,16
Média	16,22	2,20	- 84,00	23,14	- 31,84	3,27	- 49,75	1,31	- 12,96	13,08	- 10,74	17,01	- 3,64
E - 1	17,50	1,44	- 89,67	20,60	- 40,26	3,14	- 52,50	1,33	- 13,07	13,04	- 12,37	17,06	- 4,85
E - 2	17,62	1,63	- 88,32	21,14	- 38,80	3,11	- 53,02	1,29	- 13,99	13,16	- 11,74	17,41	- 3,06
E - 3	18,31	2,51	- 82,17	21,40	- 38,54	3,58	- 46,33	1,29	- 16,23	12,86	- 14,44	17,71	- 2,15
E - 4	18,37	1,56	- 88,93	22,48	- 35,49	3,64	- 45,51	1,25	- 18,83	13,16	- 12,50	17,75	- 2,04
Média	17,95	1,78	- 87,27	21,40	- 38,27	3,37	- 49,34	1,29	- 15,53	13,05	- 12,76	17,48	- 3,02
F - 1	19,50	1,97	- 86,20	22,74	- 35,64	3,45	- 49,04	1,31	- 16,03	13,16	- 13,70	17,80	- 3,10
F - 2	19,62	1,80	- 87,42	23,25	- 34,30	3,67	- 45,87	1,27	- 19,11	13,16	- 13,87	18,14	- 1,41
F - 3	20,18	1,94	- 86,54	23,31	- 34,62	3,44	- 49,63	1,24	- 21,52	12,86	- 16,44	18,30	- 1,24
F - 4	20,31	2,40	- 83,37	23,37	- 34,54	3,23	- 52,78	1,18	- 25,32	13,71	- 11,03	18,40	- 0,86
Média	19,90	2,03	- 85,88	23,17	- 34,77	3,45	- 49,33	1,25	- 20,49	13,22	- 13,75	18,16	- 1,65



Quadro 3. Composição do óleo do café (%).

Ácidos graxos	Verde	A	B	C	D	E	F
Mirístico	0,14	0,09	0,09	0,09	0,10	0,11	0,11
Palmítico	35,47	36,67	36,47	36,81	35,43	36,72	34,82
Estearico	8,31	7,98	7,87	7,87	7,83	7,55	8,40
Oléico	9,35	8,75	8,78	8,85	9,18	8,55	9,13
Linoléico	41,88	42,40	42,58	41,72	41,96	42,06	42,65
Araquídico	3,04	2,28	2,42	2,84	3,29	2,93	3,03
Linolênico	1,64	1,35	1,42	1,54	1,91	1,75	1,56
Behênico	0,17	0,45	0,36	0,35	0,28	0,33	0,28

Quadro 4.

	Ácidos graxos livres	Matéria insaponificável	Número peróxido
A - 1	1,37	11,45	0
2	1,21	11,01	0
3	1,42	10,35	0
4	1,56	10,26	0
Média	1,39	10,77	0
B - 1	1,24	10,53	0
2	1,58	10,93	0
3	1,44	10,33	0
4	1,40	10,20	0
Média	1,42	10,50	0
C - 1	1,82	9,93	0
2	1,59	11,06	0
3	2,60	10,71	0
4	1,72	10,43	0
Média	1,94	10,28	0
D - 1	2,77	10,07	0
2	2,24	9,72	0
3	2,10	9,71	0
4	2,30	9,37	0
Média	2,35	9,72	0
E - 1	3,32	9,25	0
2	2,56	9,45	0
3	2,77	8,95	0
4	3,02	9,34	0
Média	2,92	9,25	0
F - 1	3,00	9,59	0
2	2,99	9,51	0
3	2,76	9,17	0
4	3,47	9,20	0
Média	3,06	9,37	0
Café verde	1,11	11,00	3,32

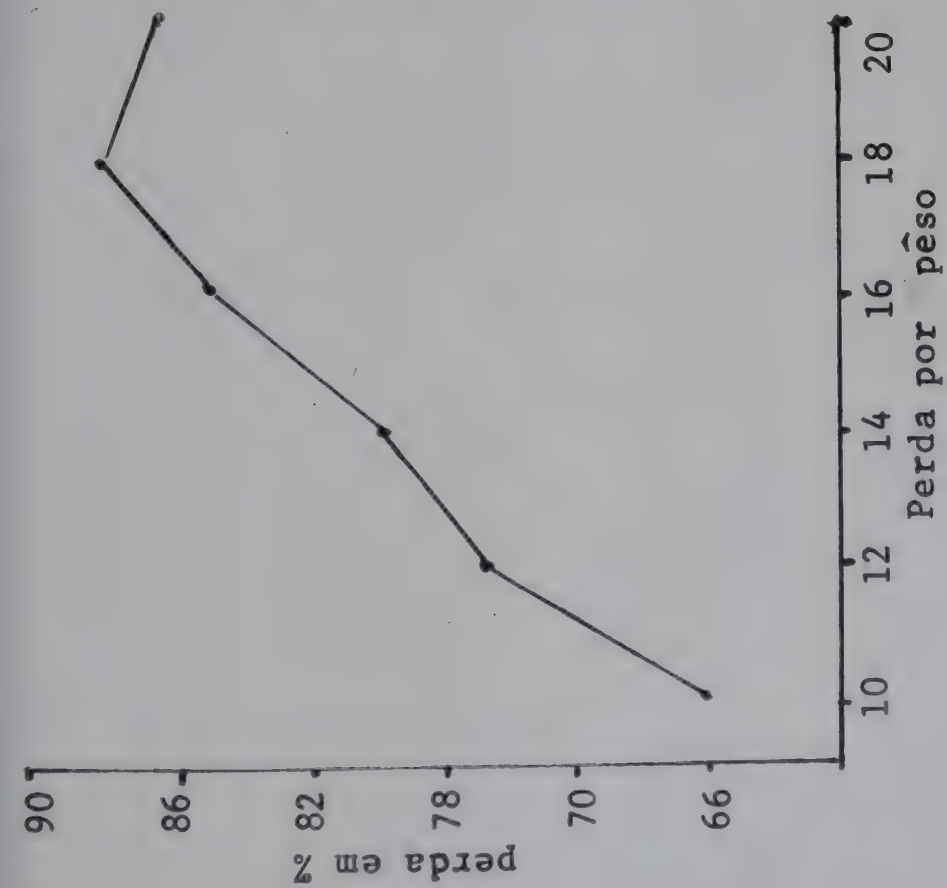


Fig. 3. Teor de unidade de grãos torra-  
dos.

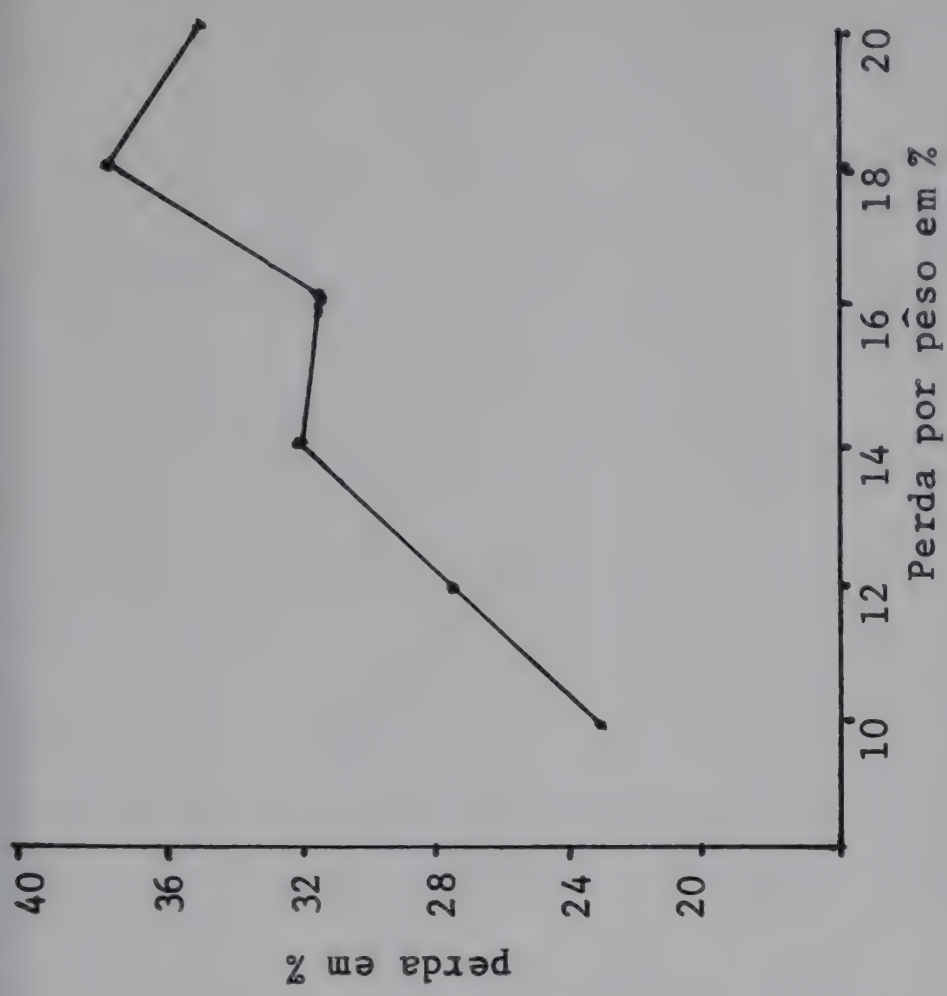


Fig. 4. Teor de sólidos solúveis to-  
tais de grãos torrados.



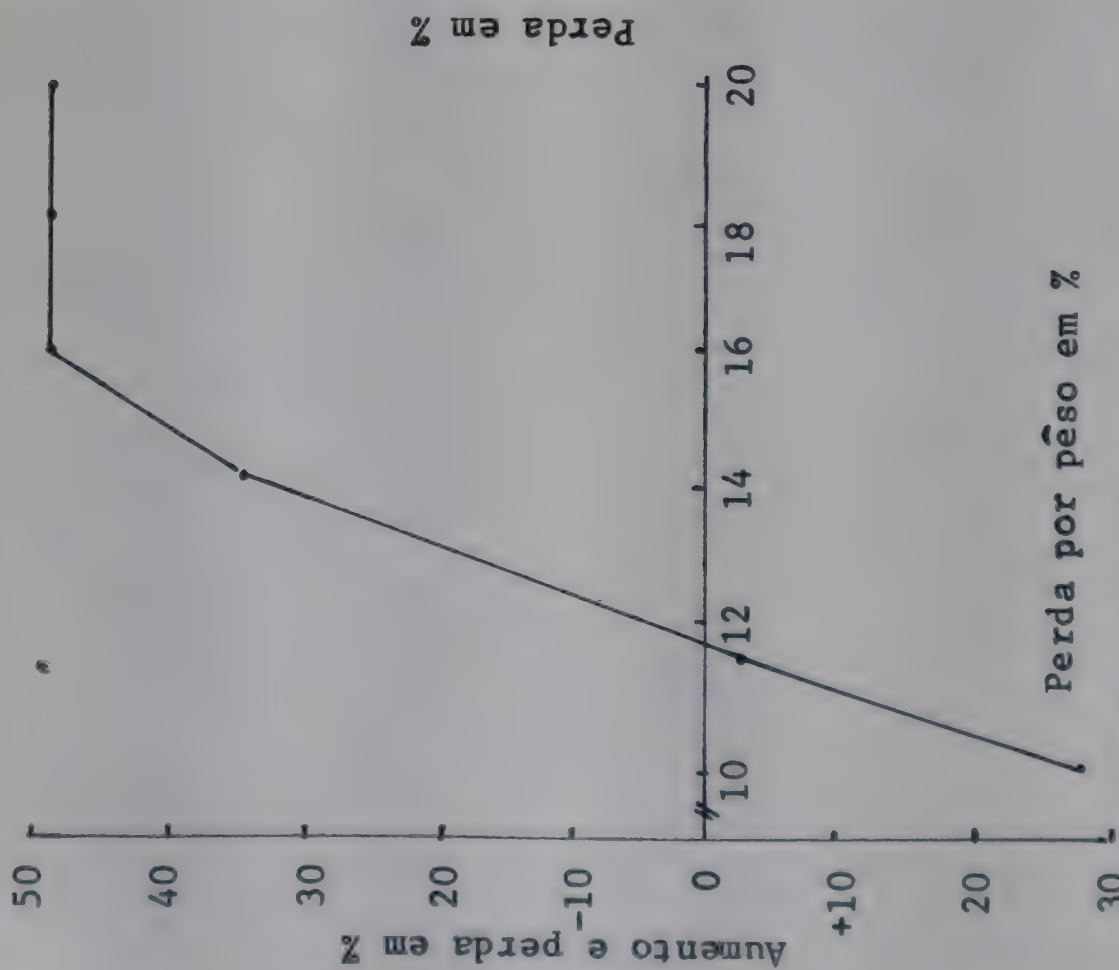


Fig. 5. Total de açúcares totais de grãos torrados.

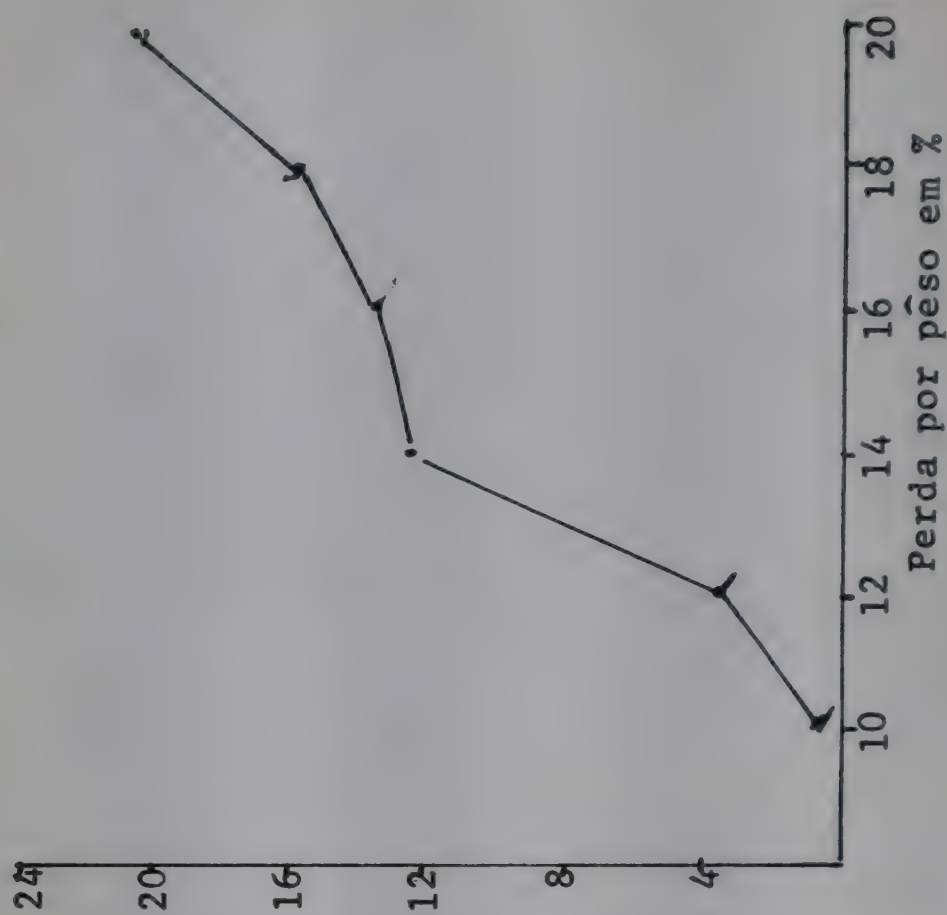


Fig. 6. Teor de cafeína de grãos torrados.

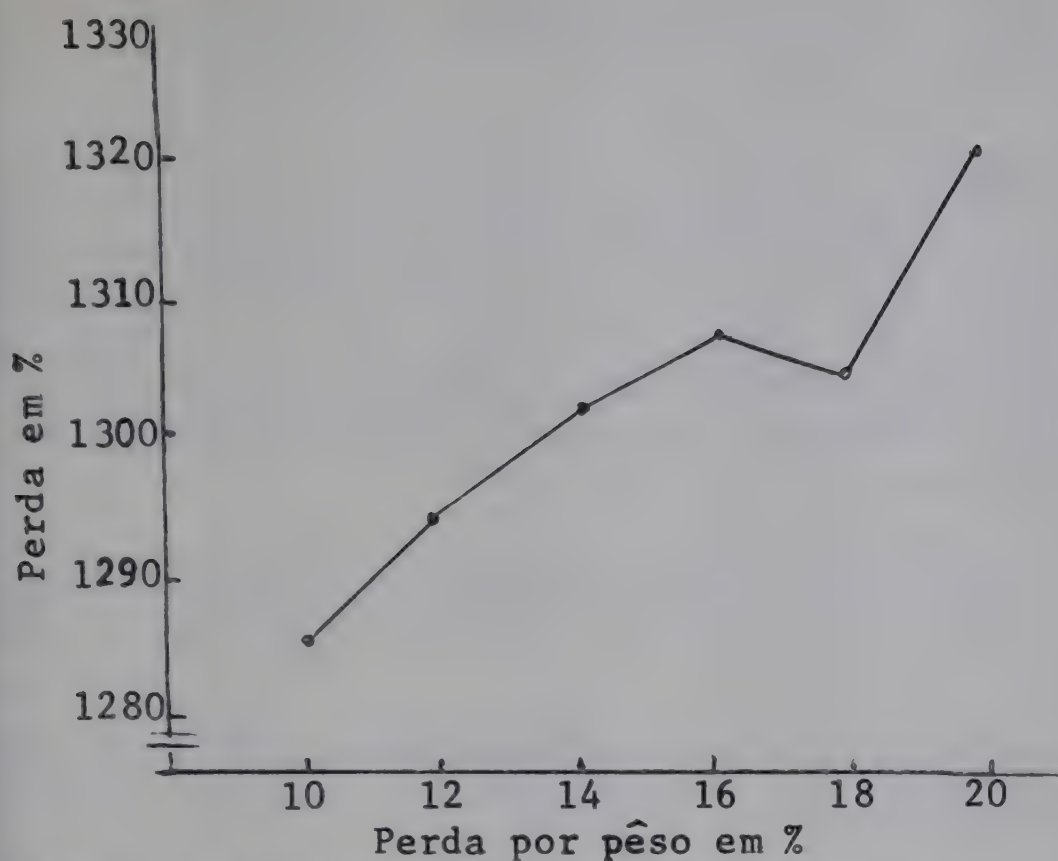


Fig. 7. Teor de proteína de grãos torrados.

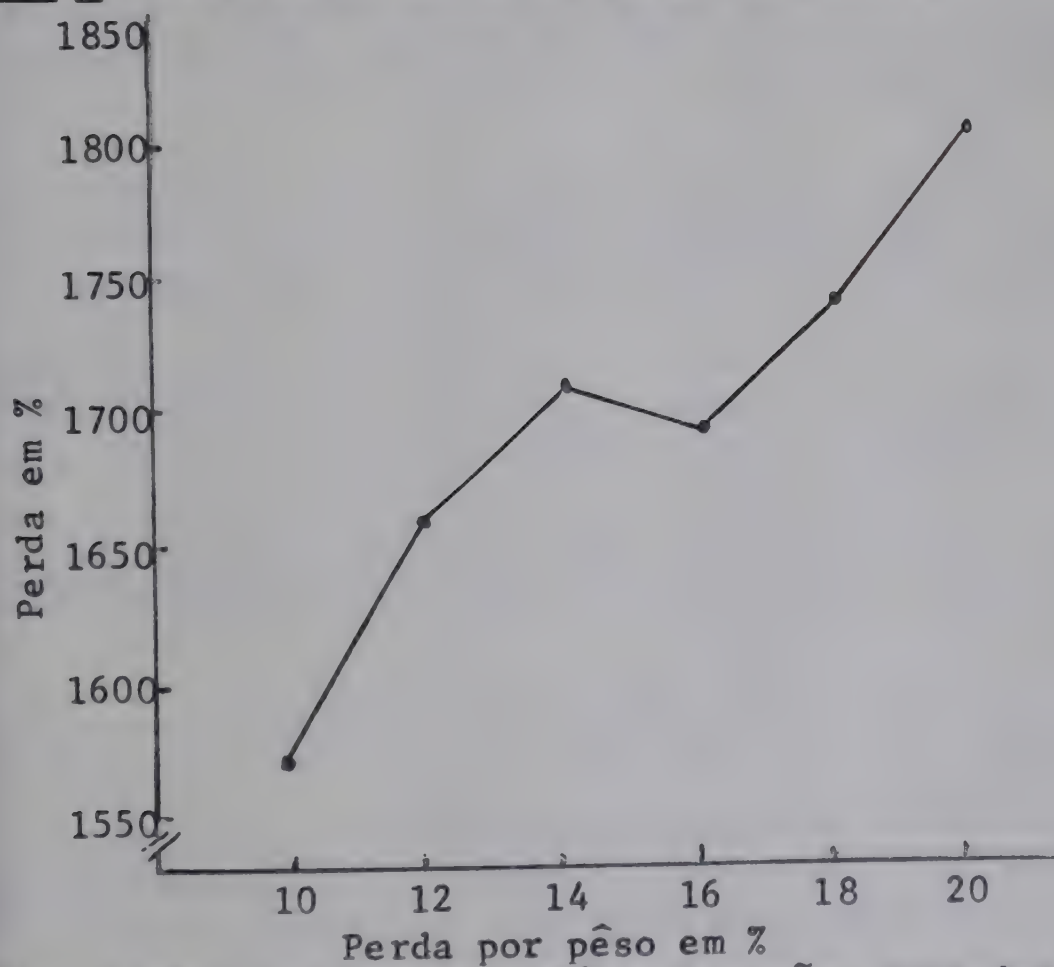


Fig. 8. Teor de extrato etéreo de grãos torrados.

## CONCLUSÕES

O exame das Figuras 3 a 8 mostrou que:

1. Considerando ao mesmo tempo todos os componentes em estudo, todos estes tiveram uma perda proporcional relacionada com a intensidade de torração, com exceção dos açúcares totais que aumentaram nas amostras A (10,09%) e B (12,06%), aumentos estes da ordem de 27,83% para a primeira amostra e 3,27% para a segunda, em relação ao café verde.

2. A perda de umidade foi praticamente gradual, até um máximo de 87,27% da umidade que ocorre no café verde.

3. A perda de sólidos solúveis também foi praticamente gradual até um máximo de 38,27% do conteúdo existente no material original.

4. A perda de cafeína foi gradual, alcançando um máximo de 20,49% do conteúdo de cafeína existente no café verde.

5. A perda de proteína foi diretamente proporcional à intensidade da torração, com um máximo de 13,76% da proteína existente no café não torrado.

6. A perda dos componentes do extrato etéreo foi pequena, com algumas variações alcançando um máximo de 4,56% do extrato etéreo existente no café verde.

7. Com base na interpretação estatística, observou-se as seguintes correlações nas amostras torradas:

### Correlação

Açúcares totais	x	cafeína	.....	0,62	**
Açúcares totais	x	extrato etéreo	.....	0,81	**
Sólidos solúveis	x	açúcares totais	.....	0,64	**
Sólidos solúveis	x	extrato etéreo	.....	0,53	**
Extrato etéreo	x	cafeína	.....	0,57	**

(\*\*)  $P = 0,01$



- a) Correlação altamente significativa ( $r=0,64$ ) entre sólidos solúveis e açúcares totais.
- b) Correlação negativa altamente significativa ( $r= -0,53$ ) entre sólidos solúveis e extrato etéreo.
- c) Correlação altamente significativa ( $r=0,62$ ) entre açúcares totais e cafeína.
- d) Correlação negativa altamente significativa ( $r= -0,81$ ) entre açúcares totais e extrato etéreo.
- e) Correlação negativa altamente significativa ( $r= -0,57$ ) entre cafeína e extrato etéreo.

8. Um aumento gradual foi observado nos ácidos graxos livres do óleo, de 1,39% para a amostra A, a 3,06% para a amostra F, contra 1,11% no óleo de café verde.

Em relação à matéria insaponificável, houve uma pequena perda da amostra A (10,77%), para a amostra E (9,25%). No óleo de café verde, o valor foi de 11,00%.

Quanto ao número peróxido, obteve-se para o óleo de café verde um valor de 3,32, e zero para as amostras de café torrado.

Os ácidos graxos do óleo não foram, em geral, afetados pelo grau de torração.

9. Em relação à indústria de café instantâneo, quanto menor o grau de torração maior será o rendimento, o qual é dependente da cor requerida pelo mercado.

## LITERATURA

1. Association of Official Agriculture Chemist. Official Methods of Analysis, 10 th ed. Washington D.C.
2. ISHLER, N.H. FINUCANE, T.P. and BORKER, E. Rapid spectrophotometric determination of caffeine. Anal. Chem. 20: 1162, 1948.
3. JACOBBER & STAUB, Method suggested by the Association Scientifique Internationale du Café, 1966.
4. JACOBS, M.B. The Chemical Analysis of Foods and Food Products. 3rd ed. September, 1965.
5. LOCKHART, E.E. Chemistry of Coffee. Publication n° 25, 1957. The Coffee Brewing Institute, Inc., New York, N.Y.
6. MERRIT, M.C., PROCTOR, B.E. Effect of temperature during the roasting cycle on selected components of different types of whole bean coffee. Food Research 24(6): 672-678, 1959.
7. STOLDT, W. Dtsch Lebensmittel. Rdsch 45: 41, 1949.

# A POSSIBILIDADE DO CRESCIMENTO DE *Clostridium botulinum* NO PALMITO ENLATADO (\*)

Fumio Yokoya  
Mauro Faber Freitas Leitão  
Tobias J.B. de Menezes

## RESUMO

Foi estudada a possibilidade de ocorrência de crescimento de *Clostridium botulinum* em palmito enlatado, uma vez que a maioria das marcas comerciais desse produto se apresenta no mercado com pH superior a 4,5, ou seja, acima do limite de segurança para prevenir o desenvolvimento do referido organismo. Para fins comparativos, também foram testadas algumas linhagens de *B. coagulans*, o organismo causador da deterioração ácida ("flat-sour") em produtos de pH entre 4,0 e 4,5.

Os resultados mostraram que não há substância inibidora em palmito enlatado que possa impedir o crescimento de bactérias. Além disso, esse produto possui nutrientes suficientes para permitir o crescimento de *Cl. botulinum*, desde que haja condição de pH favorável (pH superior a 4,5).

## SUMMARY

THE POSSIBILITY OF GROWTH OF *Clostridium botulinum* IN CANNED PALM HEART. The possibility of growth of *Clostridium botulinum* in canned palm heart was tested by inoculating several strains of this organism on media prepared from palm heart infusion.

\* Trabalho apresentado na XX Reunião Anual da SBPC, realizada em São Paulo, em 1968



*The result showed that there is no antimicrobial substances in palm heart which may prevent from growth of Clostridium botulinum and Bacillus coagulans. It, also, indicated that palm heart contains enough factors to permit the growth as long as pH is favorable.*

## INTRODUÇÃO

O enlatamento de palmito desenvolveu-se no Brasil há vários anos. Consiste no aproveitamento das bainhas brancas e tenras da parte interna do cone verde, que é formado pelas bainhas folhaves, cortando-as em pedaços de aproximadamente 12 cm de comprimento, que são acondicionados em latas, adicionando-se salmoura a 4% e suficiente ácido cítrico para se obter um pH final pouco abaixo de 4,5. Esse produto é esterilizado em banho-maria, com a água em ebulição.

O diâmetro dos pedaços de palmito varia de 1 a 5 cm. Essa irregularidade faz com que se torne muito difícil o controle do peso drenado na lata e, conseqüentemente, do pH do produto, medido após o equilíbrio da acidez do palmito com a salmoura.

O levantamento desse produto nos mercados do Brasil foi realizado pelo C.T.P.T.A. (1). Verificou-se que o peso drenado e o pH eram muito variáveis entre e dentro das marcas comerciais examinadas. O pH da maioria das amostras era superior a 4,5, tendo alcançado, para uma delas, o valor de 5,1.

Portanto, o produto é potencialmente perigoso à saúde pública, visto que é frequentemente consumido com salada, sem nenhum aquecimento, além da ocorrência do botulismo não poder ser impedida pelo seu pH. No entanto, nenhum acidente dessa natureza foi até agora constatado.

O presente trabalho teve por objetivo, verificar a possível existência de alguma substância antimicrobiana no palmito enlatado, que pudesse impedir o crescimento de *Clostridium botulinum*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os microrganismos testados foram os seguintes: *Clostridium sporogenes*, *Clostridium botulinum* (sete linhagens), *Clostridium* sp. PA3679 e *Bacillus coagulans* (quatro linhagens). Os inóculos de *Clostridium* foram preparados em caldo de infusão de fígado (2) e de *B. coagulans* em ágar de suco de laranja (2).

Os seguintes meios, preparados à base de extrato de palmito, foram testados:

1. Infusão de palmito (IP). Preparado pela desintegração do conteúdo do palmito enlatado num liquidificador, durante 3 minutos, removendo-se, a seguir, as partículas sólidas por filtração, através de quatro camadas superpostas de gaze. A porção líquida obtida foi colocada em tubos de cultura (16 x 150 mm), na quantidade de 10 ml em cada tubo, esterilizando-os, a seguir, à temperatura de 121°C, durante 15 minutos.

2. Infusão de palmito enriquecido (IPE). Preparada como o meio IP, porém enriquecendo-o com 0,5% de peptona (Difco) e 0,2% de extrato de levedura (Difco).

O pH dos meios de cultura acima foi ajustado ao valor desejado, antes da esterilização, pela adição de suficiente quantidade de NaOH 1N. Verificou-se o pH do meio preparado, após a esterilização, uma vez que uma pequena mudança do pH pode ser esperada no processo de autoclavagem.



Os organismos anaeróbios (*Clostridium*) foram inoculados por transferência de 0,2 ml de cultura, em desenvolvimento vigoroso, ao meio em que o oxigênio dissolvido fôra previamente removido por aquecimento em água fervente, durante 15 minutos e resfriado, em seguida, a 50°C. Após inoculação, o meio foi coberto com 1 cm de "vaspar" (2).

A seguir, os tubos foram incubados a 30°C, observando-se o crescimento após duas a quatro semanas. O crescimento foi registrado pelo aumento da turvação e pela formação de gás.

O *B. coagulans* foi inoculado por transferência de uma suspensão aquosa das células em crescimento, sendo, a seguir, os tubos incubados a 45°C, durante duas semanas. O crescimento foi detectado pelo aumento de turvação e pelo abaixamento do pH do meio.

## RESULTADOS

Os resultados preliminares mostraram que tôdas as linhagens de *Clostridium* testadas podem desenvolver-se no meio preparado à base de palmito (IP e IPE), em pH 6,0 e 6,5. Como os meios de cultura IP e IPE podem ser enriquecidos pela adição de caldo de fígado, juntamente com o inóculo, as culturas desenvolvidas nesses meios foram transferidas para uma nova série do mesmo meio. Novamente, as bactérias mostraram crescimento vigoroso dentro de duas semanas.

A fim de determinar o pH mínimo para o crescimento dessas bactérias em meio preparado à base de palmito, foi efetuado um novo ensaio, no qual os valores de pH variavam de 4,5 a 5,5. Os resultados obtidos constam do quadro 1.



Tôdas as linhagens dos gêneros *Clostridium* e *Bacillus* se desenvolveram em pH 5,5. Duas linhagens de *Cl. botulinum* e o *C. sporogenes* não se desenvolveram no meio IP de pH 5,0, ao contrário do que ocorreu no meio IPE, com idêntico pH. O *clostridium* sp. PA3679 não se desenvolveu em ambos os meios, com pH 5,0.

Quadro 1. Crescimento de várias linhagens de *Clostridium* e *Bacillus* nas infusões de palmito (IP) e infusão enriquecido de palmito (IPE) a diferentes valores de pH.

Linhagens	Crescimento em meio IP de pH			Crescimento em meio IPE de pH		
	4,5	5,0	5,5	4,5	5,0	5,5
<i>Cl. botulinum</i> 69 A	0	3	3	0	3	3
" " Min E	0	0	3	0	2	3
" " 34 B	0	1	3	0	3	3
" " 109 A	0	3	3	0	3	3
" " 6 B	0	2	2	0	2	3
" " 169 B	0	3	3	0	3	3
" " 240 A	0	0	1	0	2	1
<i>Cl. sp</i> RA 3679	0	0	2	0	0	3
<i>Cl. sporogenes</i> E 225	0	0	3	0	3	3
<i>B. coagulans</i> 43 P	3	3	3	3	3	3
" " 200	3	3	3	3	3	3
" " 1004	0	3	3	0	3	3
" " 1012 A	3	3	3	3	3	3
pH após a esterilização	4,50	4,98	5,30	4,50	5,00	5,31

Tôdas as linhagens de *Clostridium* não se desenvolveram em pH 4,5, em ambos os meios de cultura (IP e IPE). Tôdas as linhagens de *B. coagulans*, com exceção de uma, desenvolveram-se nesse pH.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que não ocorre substância antibacteriana no palmito enlatado, que possa impedir o crescimento de *Clostridium botulinum* e *Bacillus coagulans*. Mostram, também, que o palmito enlatado contém suficientes fatores de crescimento que podem possibilitar o crescimento dessas bactérias, desde que o pH seja favorável.

O produto geralmente é processado em fábricas pequenas, mediante o emprêgo de processos rudimentares. O calor aplicado na sua esterilização não é suficiente para destruir os esporos de *Cl. botulinum*. Contudo, não se tem registrado qualquer caso de botulismo pelo consumo desse produto, apesar de frequentemente o seu pH ser muito superior a 4,5. Isso pode indicar que os solos brasileiros não contêm uma população apreciável de esporos de *Cl. botulinum*.

## LITERATURA

1. MENEZES, T.J.B., & LEITÃO, M.F.F. Estudo comparativo do palmito enlatado (em impressão).
2. SHARF, J.M. Recommended method for the microbial examination of foods. 2nd, ed., Am. Publ. Health Assn., Inc., New York, 207 p., 1966.



## FATORES INFLUINDO NA ATIVIDADE DIASTÁSICA DA FARINHA DE TRIGO

Werner Horst Bär

### RESUMO

*Com a finalidade de verificar o comportamento de produtos enzimáticos e de alguns compostos orgânicos - destacando-se entre eles o ácido láctico - fez-se este trabalho. Procurou-se estabelecer um equilíbrio na atividade desses enzimas, com relação à capacidade de produção de gás carbônico adequada durante a fermentação, evitando-se, ao mesmo tempo, a possibilidade de uma dextrinização excessiva, durante o processo de cozimento da massa. Tais procedimentos aplicam-se, na maioria dos casos, às farinhas que não apresentam condições satisfatórias de equilíbrio enzimico necessário durante a fermentação da massa.*

*Ensaio realizado no amilógrafo com ácido láctico adicionado em quantidades mínimas, inicialmente a uma suspensão de farinha em água, mostraram a escala gradual da viscosidade. Verificou-se que uma farinha de trigo de elevada viscosidade e de baixa produção de gás carbônico, terá possibilidade de correção de sua atividade, mediante adição de produto enzimico em quantidade razoável ao suprimento equilibrado de maltose sem afetar o aumento excessivo de viscosidade.*

*Observou-se, também, que a massa proveniente de uma farinha normal sofre uma expansão adequada e que o seu cozimento ocorre normalmente sem prejudicar a estabilidade do miolo; e, que uma farinha de baixa viscosidade, teria a viscosidade aumentada mediante adição de ácido láctico suficiente para estabelecer condições similares às aquelas existentes em farinha de trigo que dispõe de uma atividade equilibrada.*



Procurou-se verificar, ainda, no amilógrafo, a possibilidade de variação da viscosidade, com obtenção de valores intermediários entre os valores extremos acusados no aparelho.

Nestas condições, variando as quantidades de ácido láctico para uma determinada quantidade de produto enzimico e vice-versa, para cada valor ou faixa de valores, a influência mais ou menos significativa destes, nos resultados relativos aos ensaios de panificação.

Considerando a ação conjunta ou unilateral de cada elemento, a saber, o produto enzimico e o ácido láctico, de conformidade com o comportamento enzimico inicial da farinha de trigo ou das farinhas mistas correspondentes, tem-se a possibilidade de melhorar o produto final, corrigindo-se tais deficiências que poderão ser de caráter mais ou menos complexo, ou ser de fácil solução.

Quando há necessidade de ação conjunta de ambos os elementos em vista de uma deficiência enzimica mais complexa, nem sempre os resultados posteriores na panificação são satisfatórios. Sucede o contrário, quando se considera suficiente a adição de um deles e a qualidade do produto final corresponde, com mais frequência, aos resultados obtidos no amilógrafo, quanto à viscosidade registrada e aqueles expressos segundo o índice de maltose em sua relação estreita com a capacidade de produção de gás carbônico.

## SUMMARY

FACTORS INFLUENCING THE ENZYME ACTIVITY OF WHEAT FLOUR. Utilization of lactic acid and enzyme preparation for the improvement of deficient wheat flours.

An experimental work was carried out with the purpose of evaluating the behavior of enzymatic products and lactic acid on the baking process. The main

objective was to control the enzyme activity related to the capacity of production of carbon dioxide avoiding at the same time the possibility of excessive starch dextrinization during the permanence of the dough in the oven.

This procedure is recommended and applied to wheat flours that present a low enzymatic activity allowing a satisfactory production of carbon dioxide during the fermentation of the dough. In the case of a wheat flour of low viscosity, small and gradual addition of lactic acid resulted in an increasing of the viscosity observed through determination in the amylograph.

In the case of a wheat flour of high viscosity and low capacity of evolution of carbon dioxide in the dough, it is possible to make the necessary correction through the addition of enzymatic preparation in reasonable amount to allow the formation of sufficient maltose for the fermentation process without any annoying effect on the viscosity.

In the case of a normal wheat flour the dough presents an adequate expansion during the fermentation stage and the baking process is accomplished without any injury to the crumb stability.

For a wheat flour of low viscosity the addition of enough lactic acid will create condition for increasing the viscosity at the same level of that of a flour with normal enzyme activity.

It was also investigated the possibility of variation in viscosity registered in the amylograph permitting the obtention of values between the lowest and the highest ones. Through the variation in the amount of lactic acid added for a specific amount of enzyme preparation and vice-versa, it was possible to obtain degrees of viscosity previously determined and to establish a more or less significant correlation with the baking trials.



*By knowing the effect of the addition of lactic acid and enzyme preparations it will be possible to make the necessary corrections in a deficient wheat flour or in a mixture of flours, improving the qualities of the final one allowing the production of bread of better characteristics.*

*In the case of a flour that needs correction not only of the degree of viscosity but also of the enzymatic deficiency the problem is more complex and the final results in the baking trials are not always satisfactory. However, in the case of the correction of only one of the mentioned deficiencies the data obtained in the amylograph show a good correlation with the results of the baking trials.*

## INTRODUÇÃO

O estudo relativo aos problemas da panificação é encarado sob diversos aspectos, dentre os quais destaca-se o da atividade diastásica, que se processa em parte, durante a fermentação da massa. Os enzimas contidos na farinha e na levedura conduzem à expansão adequada da massa, como condição necessária à obtenção de um produto final de qualidade, que é o pão. Assim, os enzimas que estão contidos na farinha, denominadas amilásicas, têm por função promover o desdobramento do amido em dextrina e maltose. A atividade enzimática deverá ser de ordem tal a estabelecer uma dextrinização e produção de maltose suficientes, com formação equilibrada de gás carbônico, necessário à expansão da massa. A produção equilibrada de maltose é indispensável durante o processo de fermentação, visto que a glicose, derivada daquele açúcar pela ação enzimática, necessita estar continuamente presente na massa para haver uma produção normal de gás carbônico, a partir do citado monossacáride, graças à ação dos enzimas da levedura.



Contudo, nem tãda farinha apresenta uma atividade equilibrada, e neste caso a soluçãõ estã na utilizaçãõ de meios que venham influir no aumento desta, quando originalmente deficiente. Por outro lado, a dextrinizaçãõ do amido devida à alfa-amílase poderã ser excessiva e a viscosidade da farinha correspondente, acusada no amilôgrafo, baixa, e, conseqüentemente, os pães dela elaborados apresentarem um miolo úmido e liguento, prejudicial à qualidade do produto.

Diante dos problemas citados, que têm estreita relaçãõ com a viscosidade registrada no amilôgrafo, procurou-se verificar o comportamento de ácidos, bases e sais como modificadores da viscosidade de determinada farinha, conjuntamente com produtos altamente diastásicos, tais como o biomalte, a biodiástase e a farinha de trigo de grãos pré-germinados.

Combinando a açãõ dêsses fatores, ficou demonstrada a viabilidade de se variar a viscosidade, de modo a enquadrã-la dentro de valores que, na panificaçãõ, vãõ conferir ao miolo uma porosidade normal, em relaçãõ ao produto original.

O objetivo do trabalho residiu na aplicaçãõ de produtos enzimicos, ácidos, bases e demais compostos de interêsse à panificaçãõ, destinados à correçãõ de farinhas em estado de deficiênciã quanto ao poder de gaseificaçãõ, considerando-se simplesmente seus efeitos sôbre a viscosidade registrada no amilôgrafo.

Inicialmente, tem-se verificado que os trigos de procedênciã nacional costumam ser deficientes em atividade amilásica, e que o uso dos citados produtos sob condições convenientes, confere às respectivas farinhas uma produçãõ equilibrada de gás carbônico durante a fermentaçãõ da massa.

Considerou-se, também, a temperatura de que depende a fermentaçãõ, visto a influênciã no aumento de atividade diastásica da massa com o aumento da temperatura. Finalmente, foi considerado o equilíbrio do

poder de gaseificação em farinhas mistas, mediante os procedimentos assinalados.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a medição do poder de gaseificação, foram concebidos diversos métodos, dentre os quais se destaca o de Rumsey, que consiste na determinação da porcentagem de maltose produzida em uma suspensão de farinha em água à temperatura de 27°C, durante o espaço de tempo de uma hora. A essa porcentagem dá-se o nome de índice de maltose, cujos valores podem indicar atividade baixa, média e alta a muito alta. A porcentagem é expressa em maltose, dado o fato desse açúcar, resultante da atividade amilásica sobre o amido, ocorrer em maior quantidade que os demais redutores pré-existent na farinha.

Decorrido o tempo assinalado, a suspensão de farinha em água, na proporção de 10 g/100 ml, sofre a adição de 0,2 ml de ácido sulfúrico concentrado e 4 ml de volframato de sódio, para inativação enzimica e clarificação do extrato de farinha, que se obtém na filtração. O volframato de sódio é utilizado em solução de 15%. O filtrado, suficientemente claro, é aproveitado para determinação dos redutores, expressos em maltose, de acordo com os seguintes métodos: a) Lane-Eynon modificado e b) Lane-Eynon propriamente dito.

### a) Método de Lane-Eynon modificado, segundo Haen-Low

Prepara-se a solução A, contendo 34,6 g de sulfato de cobre ( $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) em 1 litro de água, e a seguir, a solução B, contendo 173 g de tartarato de sódio e potássio e 50 g de hidróxido de sódio em 1 litro de água. Tomam-se em partes iguais 10 ml de cada solução, obtendo-se 20 ml de solução de Fehling.

A referida solução é submetida à ebulição, durante 1 minuto e resfriada em seguida à temperatura ambiente. Adicionam-se, a seguir, 10 ml de solução de



iodeto de potássio a 20% e mais 10 ml de ácido sulfúrico 1:10. A formação de iôdo na forma molecular deve-se à redução do cobre da respectiva solução de Fehling. Titula-se o iôdo assim formado com solução 0,1 N de tiossulfato de sódio, e a quantidade lida na bureta de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , foi de 13,5 ml. Como os redutores vêm expressos em maltose, adicionam-se, na operação seguinte, 14 ml de solução de maltose a 4,11% a 20 ml de solução de Fehling. Aquece-se até ebulição durante 1 minuto, e a seguir, após resfriamento, titula-se novamente com solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  na normalidade indicada, obtendo-se na leitura 3,4 ml que representa a quantidade de iôdo obtido na redução do cobre que restou na solução de Fehling, visto que uma parte dêle foi reduzida pela maltose contida em 14 ml de solução a 4,11%. A diferença nas duas leituras, isto é,  $13,5 - 3,4 = 10,1$  ml, representa a quantidade de iôdo de solução 0,1 N, correspondente a 0,0575 g de maltose contida em 14 ml da solução a 4,11%, quantidade esta que reduziu a primeira porção do cobre, cabendo à porção restante, uma redução em que resultou iôdo na forma molecular, titulado por 3,4 ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  de solução 0,1 N. Pode-se, pois, estabelecer correspondência entre a quantidade de 10,1 ml de solução 0,1 N de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  e a quantidade de 0,057 g de maltose. Então, para cada 1 ml de tiossulfato de sódio 0,1 N, lido por diferença na bureta, corresponde a  $\frac{0,057}{10,1} = 0,0057$  g de

maltose. Assim, efetuou-se uma série de determinações com quantidades variáveis de adição de solução de maltose na porcentagem citada, tendo-se, para cada 1 ml de solução 0,1 N de tiossulfato de sódio, obtido uma média correspondente de 0,0059 g de maltose, que se representa pela letra  $f$  na equação abaixo indicada, a qual permite calcular a porcentagem de maltose de determinada amostra de farinha:

$$P_t = \frac{L \cdot f \cdot c \cdot 100}{b \cdot e}$$

$$P_{27^\circ\text{C}} = I_m$$



na qual:

$P_t$  = a porcentagem de maltose de uma amostra de farinha baseada numa suspensão que se submeteu à temperatura de  $t^{\circ}\text{C}$ .

$I_m$  = índice de maltose, quando a porcentagem calculada corresponde à temperatura de  $27^{\circ}\text{C}$ .

$L$  = diferença nas leituras da solução 0,1 N de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

$f$  = a quantidade em gramas de maltose, correspondente a 1,0 ml de solução 0,1 N de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

$c$  = quantidade em mililitros, da suspensão de farinha.

$d$  = quantidade em gramas, de farinha utilizada na suspensão de  $c$  ml.

$e$  = a quantidade de extrato, em mililitros, adicionado à solução de Fehling.

O extrato é pipetado, segue para o frasco de Erlenmeyer que contém a solução de Fehling e o conjunto é aquecido até ebulição durante 1 minuto. Resfria-se, a seguir, e titula-se com tiossulfato de sódio. O valor de  $L$  obtém-se por diferença entre 13,5 e o gasto de tiossulfato lido na bureta. Conhecido o valor de  $L$  de determinada amostra, tem-se o índice de maltose  $I_m$ , calculado conforme a equação acima.

#### b) Método de Lane-Eynon

A solução de Fehling é colocada num frasco de Erlenmeyer, e o extrato da amostra numa bureta. A titulação é feita após a solução de Fehling ter entrado em ebulição durante 1 minuto e meio, utilizando-se o azul de metileno, em solução de 1%, como indicador.

A redução do cobre é completada quando a solução em ebulição adquire a cor vermelho-tijolo.

Prepara-se a solução de Fehling, da seguinte maneira:

solução A - 23,64 g de  $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  por litro de solução.

solução B - 210 g de tartarato de sódio e potássio mais 60 g de hidróxido de sódio por litro de solução.

A seguir prepara-se a solução de maltose, seja de a%, para determinação do título do licor, visto que a porcentagem de redutores é expressa em maltose. Pesa-se S g de maltose com água de cristalização e completa-se o volume para v ml, conforme relação abaixo:

$$S = \frac{Mc \cdot a \cdot v}{100 \cdot M}$$

em que:

a = a porcentagem da solução de maltose.

S = a quantidade em gramas de maltose a pesar, com água de cristalização que será dissolvida em água destilada, até completar o volume de v mililitros, ou seja, S gramas em v mililitros de solução.

Mc = molécula-grama de maltose com água de cristalização.

M = idem, sem água de cristalização.

A porcentagem de maltose à temperatura t, calcula-se segundo a relação:

$$P_t = \frac{a \cdot F \cdot c}{L \cdot b}$$

$$P_{27^\circ\text{C}} = I_m$$

em que:

$I_m$  = índice de maltose.

$F$  = quantidade em mililitros de solução de maltose  $a\%$ , necessária à redução do cobre da solução de Fehling.

$b$  = quantidade em gramas da amostra de farinha, contida na suspensão de  $c$  mililitros.

$l$  = leitura na bureta da quantidade gasta em ml do extrato de amostra, para redução total do cobre da solução.

### Farinha de alto poder diastásico

Este tipo de farinha foi obtido de trigo nacional da variedade BH, submetendo-se os grãos a um processo de germinação controlada.

A primeira operação consistiu em umedecer os grãos de trigo, de modo a se ter uma umidade final suficientemente boa para sua germinação. Para o cálculo dessa umidade, usou-se a relação seguinte:

$$w = \frac{a(H_2 - H_1)}{(100 - H_2)}$$

em que:

$H_1$  = porcentagem de umidade dos grãos de trigo antes do umedecimento ou umidade inicial.

$H_2$  = porcentagem de umidade após o umedecimento ou umidade final.

$w$  = quantidade de água em mililitros que deve ser adicionada em  $a$  gramas de amostra, a fim de ficar ajustada na umidade final  $H_2$ .

Foram colocadas em condições de germinação, 2.000 gramas de grãos de trigo, da variedade BH, que acusava um teor de umidade inicial de 15%. Ajustou-se



a umidade final para 34%, adicionando-se 575,7 ml, de água, calculados de acordo com a equação acima. Nestas condições, a amostra permaneceu em recipiente fechado durante 18 a 24 horas, para a absorção de água proceder-se uniformemente. Os grãos de trigo umedecidos foram colocados em peneiras e mantidos, durante cinco dias, em ambiente à temperatura variando de 16 a 19°C. Em seguida, os grãos foram secados em estufa a ar forçado, à temperatura de 38°C, até readquirirem a umidade original de 15%. Isso foi seguido da sua moagem e peneiramento, para obtenção de uma farinha branca, separada do farelo. Essa farinha, denominada farinha de trigo de grãos pré-germinados, foi adicionada, em proporção variável, às farinhas estudadas de fraca atividade diastásica, com o objetivo de averiguar o comportamento destas, quanto às modificações surgidas em relação ao índice de maltose e à viscosidade registrada no amilógrafo. Além desse produto diastásico, preparado no laboratório do C.T.P.T.A., foram adquiridos outros, tais como a biodiástase e o biomalte, de procedências diferentes.

Os ensaios relacionados com a viscosidade, foram levados a efeito no amilógrafo. É um instrumento que registra em forma de diagrama, as variações de viscosidade de determinada amostra em suspensão em água, quando a temperatura aumenta de 1,5°C por minuto, a partir de 25°C até temperatura máxima de 95°C, que são as condições dadas pelo aparelho à respectiva suspensão de farinha. O aumento de viscosidade, que se processa a partir de 64°C a 70°C, deve-se ao fenômeno de gelatinização do amido, cuja viscosidade máxima, alcançada comumente na temperatura de 95°C, depende da atividade da alfa-amilase. Assim, se a atividade desse enzima é elevada, o grau de dextrinização é alto e o diagrama obtido no amilógrafo registra uma viscosidade máxima muito baixa, ao redor de 100 U.A., e, como consequência, na confecção dos pães, o miolo apresenta-se úmido e pegajoso. O contrário acontece quando a atividade é fraca e o diagrama resultante mostrará uma viscosidade elevada, que poderá ser da ordem de 800 a 950 unidades amilográficas Brabender.

Nestas condições, o miolo será, por sua vez, muito seco e quebradiço. Foi observado que, para o miolo ter consistência e elasticidade normais, a viscosidade deverá estar compreendida entre 350 a 650 U.A.

As duas amílases, beta e alfa, diferem entre si, em suas reações, conforme a temperatura e a acidez hidrogeniônica. A alfa-amílase é mais termoe estável do que a beta-amílase, porém esta é, por outro lado, mais resistente à acidez.

O pH ótimo de atividade, quando esta atinge o máximo, depende da temperatura. Assim, Kollatz e demais investigadores constataram que os enzimas do malte têm, à temperatura de 25°C, um pH ótimo de 4,2, ao passo que à temperatura de 69°C, o pH ótimo é de 6,0.

A dextrinização do amido, medida por meio da viscosidade é devida à alfa-amílase. O poder de gaseificação, expresso pelo índice de maltose, deve-se mais à beta-amílase.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Adição de produtos diastásicos

Se o índice de maltose é inferior a 1%, o poder de gaseificação da massa é relativamente baixo. Se o índice situa-se entre 1,8 e 2,3, a atividade é considerada alta. Acima de 2,3%, o índice de maltose é considerado muito alto e, nestas condições, o miolo do pão pode apresentar-se úmido e pegajoso. As variedades de trigo, em sua maioria, quando apresentam alta viscosidade, têm um poder de gaseificação habitualmente baixo, com índice de maltose geralmente abaixo de 1%. Vice-versa, se a viscosidade é baixa. Existem, porém, variedades que não apresentam esse comportamento, com valores altos para viscosidade e índice de maltose.



Em referência às variedades nacionais de trigo analisadas no laboratório do C.T.P.T.A., constatou-se baixo índice de maltose e valores de viscosidade acima de 650 U.A. As variedades da Estação Experimental de Capão Bonito, do Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo, acusaram índices de maltose abaixo de 1%, conforme mostram os dados abaixo:

<u>Variedades</u>	<u>Índices de maltose</u> %
K 58 Fr	0,64
P 15 828	0,52
BH 1646	0,40
Frontana	0,94
PEL 11292	0,73

Para essas variedades, há necessidade de se proceder correção, mediante adição de produto diastásico. Nesse sentido, executou-se uma série de ensaios em que foram adicionados a uma determinada farinha de trigo de índice de maltose igual a 0,75%, porcentagens crescentes de farinha de grãos de trigo pré-germinados, obtendo-se os dados de índice de maltose constantes do Quadro 1, calculados pela seguinte relação:

$$I_m = \frac{L \cdot f \cdot C \cdot 100}{b \cdot e}$$

e atribuindo-se os seguintes valores:

b = 20 g de farinha.

c = 200 ml de suspensão de farinha em água destilada.

f = 0,0059 g de maltose por mililitro de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  -0,1 N.

L =  $L_0$  para o caso de amostra que sofreu inativação imediata.

L =  $L_{30}$  inativação após 30 minutos.

L =  $L_{60}$  " " 60 "



$I_m = P_o$  a porcentagem de redutores, expressa em maltose, de amostra que sofreu inativação enzimática imediata.

$I_m = P_{30}$  idem, após 30 minutos.

$I_m = P_{60}$  idem, após 60 minutos, que seria o índice de maltose.

Esses dados, representam porcentagens de redutores, expressos em maltose, em função do tempo de inativação enzimática e adições crescentes de farinha de trigo de grãos pré-germinados.

No Quadro 1 estão dispostos os resultados das porcentagens de redutores, expressos em maltose, para inativação imediata e após 30 e 60 minutos, respectivamente.

Quadro 1. Porcentagens de redutores, expressas em maltose, em função do tempo de inativação enzimática e adições crescentes de farinha de trigo de grãos pré-germinados.

Adição de farinha de trigo pré-germinada	$L_o$	$L_{30}$	$L_{60}$	$P_o$	$P_{30}$	$P_{60}$
<u>%</u>						
0,0	0,53	1,00	1,25	0,32	0,60	0,75
1,0	0,75	1,56	2,10	0,45	0,94	1,28
2,5	0,77	2,18	2,50	0,47	1,31	1,50
5,0	0,71	2,80	3,30	0,43	1,70	2,00
10,0	0,83	4,10	5,10	0,51	2,46	3,07
20,0	1,03	4,70	6,30	0,62	2,82	3,78
30,0	1,20	4,96	7,00	0,73	2,98	4,20
100,0	1,60	8,83	11,83	0,98	5,30	6,10

Os dados do Quadro 1 mostram que há um aumento gradativo do índice de maltose, tanto em função do tempo de inativação enzimica, como da adição de farinha diastásica. Os resultados da coluna correspondente a P<sub>60</sub>, mostram os extremos de 0,75% de índice de maltose para a farinha de trigo de fraca atividade e 6,10% para a farinha de trigo de grãos pré-germinados. A adição de produto diastásico depende do índice de maltose resultante, que não deve ser nem muito baixo e nem demasiado alto, podendo-se, no exemplo citado, escolher a adição de 2,5% de farinha de trigo de grãos pré-germinados, visto que esta corresponde a um índice de 1,5%, considerado uma atividade diastásica média. Entretanto, o diagrama obtido no amilógrafo, correspondente à citada adição de 2,5%, acusou uma viscosidade de 70 U.A., que é considerada muito baixa. Nesse caso, o miolo do pão resultante poderá ficar muito úmido e pegajoso. A farinha original, isto é, sem adição da farinha diastásica, apresentou um diagrama com viscosidade máxima de 900 U.A., o que demonstra ser pouco acentuado o grau de dextrinização, pois que em relação àquela com 2,5% de adição, essa viscosidade baixa para 70 U.A. Portanto, devem ser consideradas apenas adições abaixo de 2,5%.

Isso é confirmado por ensaios de panificação, nos quais se determinam o volume e porosidade interna do pão, fatores esses que exprimem a cifra de panificação. O fator volume é o volume do pão para 100 gramas de farinha. O fator porosidade corresponde ao tamanho das cavidades internas do miolo. Quanto maiores as cavidades, tanto menor é o fator, e vice-versa. A cifra de panificação é igual ao produto do fator porosidade pelo fator volume dividido por 100.

Esses ensaios mostraram que a cifra de panificação atingiu valor máximo para uma adição de 1% de farinha de trigo de grãos pré-germinados, correspondente a um índice de maltose de 1,28%, conforme mostram os resultados seguintes:



## Farinha de grãos pré-germinados

<u>%</u>	<u>Fator</u> <u>volume</u>	<u>Fator</u> <u>porosidade</u>	<u>Cifra</u> <u>de</u> <u>panificação</u>	<u>Poder</u> <u>de</u> <u>panificação</u>
0,0	84	80	67	baixo
1,0	118	75	87,5	regular
2,5	145	40	58	muito baixo
5,0	156	30	46,8	muito baixo

Os dados de cifra de panificação indicam, portanto, que a porcentagem escolhida de adição seria de 1%, visto que a adição de 2,5% de farinha de trigo de grãos pré-germinados determina uma baixa viscosidade e o ensaio de panificação acusou uma cifra correspondente igualmente baixa.

A adição do produto diastásico a uma determinada farinha, depende das condições de sua atividade, isto é, da viscosidade e do índice de maltose iniciais. Por outro lado, a correção de farinha fraca em atividade depende do produto diastásico, cuja adição para regularizar o índice de maltose não deverá permitir uma viscosidade muito baixa.

À farinha de trigo da variedade nacional BH, de baixo índice de maltose, isto é, de 0,6%, é melhor a adição de biodiástase do que de farinha de trigo de grãos pré-germinados, visto que proporciona com apenas 0,02% de adição, um índice de maltose de 1,9%, correspondente a uma viscosidade de 460 U.A., o que está dentro das condições exigidas. A farinha de trigo de grãos pré-germinados, nas condições ideais de 1,9%, não proporciona uma viscosidade acima de 350 U.A.

### Trigo de índice de maltose e viscosidade altos

Pela adição de porcentagens crescentes de biodiástase em farinha de trigo de procedência americana, de índice de maltose 2,04% e 840 U.A., foram obtidos os resultados seguintes (ver Figura 2):



<u>Adição de biodiástase</u>	<u>Índice de malto-</u> <u>se</u>	<u>Viscosidade</u> <u>em U.A.</u>
<u>%</u>	<u>%</u>	
0,000	2,04	840
0,005	2,47	685
0,010	2,70	540
0,020	3,15	340
0,200	6,55	35

Os dados acima mostram que pela adição de 0,010% de biodiástase, obteve-se uma viscosidade de 540 U.A., considerada dentro das condições normais, mas que corresponde ao índice de maltose de 2,7%, que é muito alto. A adição de 0,005% de biodiástase, correspondente a 2,47% de índice de maltose ainda é possível de ser considerada, apesar da viscosidade correspondente ser de 685 U.A., pouco acima das condições exigidas. Nas farinhas de índice de maltose normal a alto, isto é, de equilíbrio normal quanto ao poder de gaseificação, porém de viscosidade alta, a solução está na adição de um produto que apenas diminua a viscosidade. O produto diastásico denominado biomalte tem a propriedade de baixar somente a viscosidade, sem alterar o índice de maltose. Assim, tomando-se uma farinha que acusava índice de maltose de 1,6% e viscosidade alta de 950 U.A., obteve-se os seguintes resultados quanto à variação da viscosidade em função de adições crescentes de biomalte (ver Figura 3).

<u>Adições de biomalte</u>	<u>Viscosidade em U.A.</u>
<u>%</u>	
0,0	950
0,1	680
0,2	580
0,3	500
0,4	400
0,6	280
0,8	220
1,0	200

Portanto, para abaixar a viscosidade nas condições precisas, para a farinha em referência, a adição de biomalte estaria compreendida entre 0,1 e 0,4%.

Pela análise geral dos resultados, pode-se dizer que a porcentagem de adição de determinado produto diastásico depende das características da farinha quanto ao seu índice de maltose e viscosidade, assim como do próprio produto adicionado, a fim de se obter uma atividade equilibrada.

Atualmente, é bem conhecida a importância de produtos diastásicos obtidos a partir de fungos, isto é, do *Aspergillus oryzae*, com grande aplicação na indústria de panificação. São menos termoe estáveis que as amilases do malte e da bactéria. Durante o processo de cozimento da massa perdem sua ação enzimica em pouco tempo, o que constitui vantagem sobre os produtos obtidos do malte. Portanto, pesquisas já efetuadas nesse sentido, demonstraram a superioridade das amilases fúngicas sobre os produtos provenientes do malte.

#### Adição de ácidos, bases e sais

Os ácidos, bases e sais exercem influência sobre a viscosidade de uma suspensão de farinha, como pode ser verificado no amilógrafo, isto porque a farinha sob condições diferentes de concentração hidrogênica, a atividade enzimica em relação à alfa e beta-amilases é modificada, com mudanças na dextrinização do amido e na produção de maltose.

Os ensaios basearam-se na utilização do ácido láctico, do hidróxido de sódio e do glutamato monossódico.

Visto que a viscosidade tem relação direta com o amido, procurou-se, inicialmente, verificar se a ação do ácido láctico e do hidróxido de sódio sobre uma suspensão de amido de milho com teor de umidade original de 14%. Para isso, foram adicionadas a 40 g de



Figura 1.

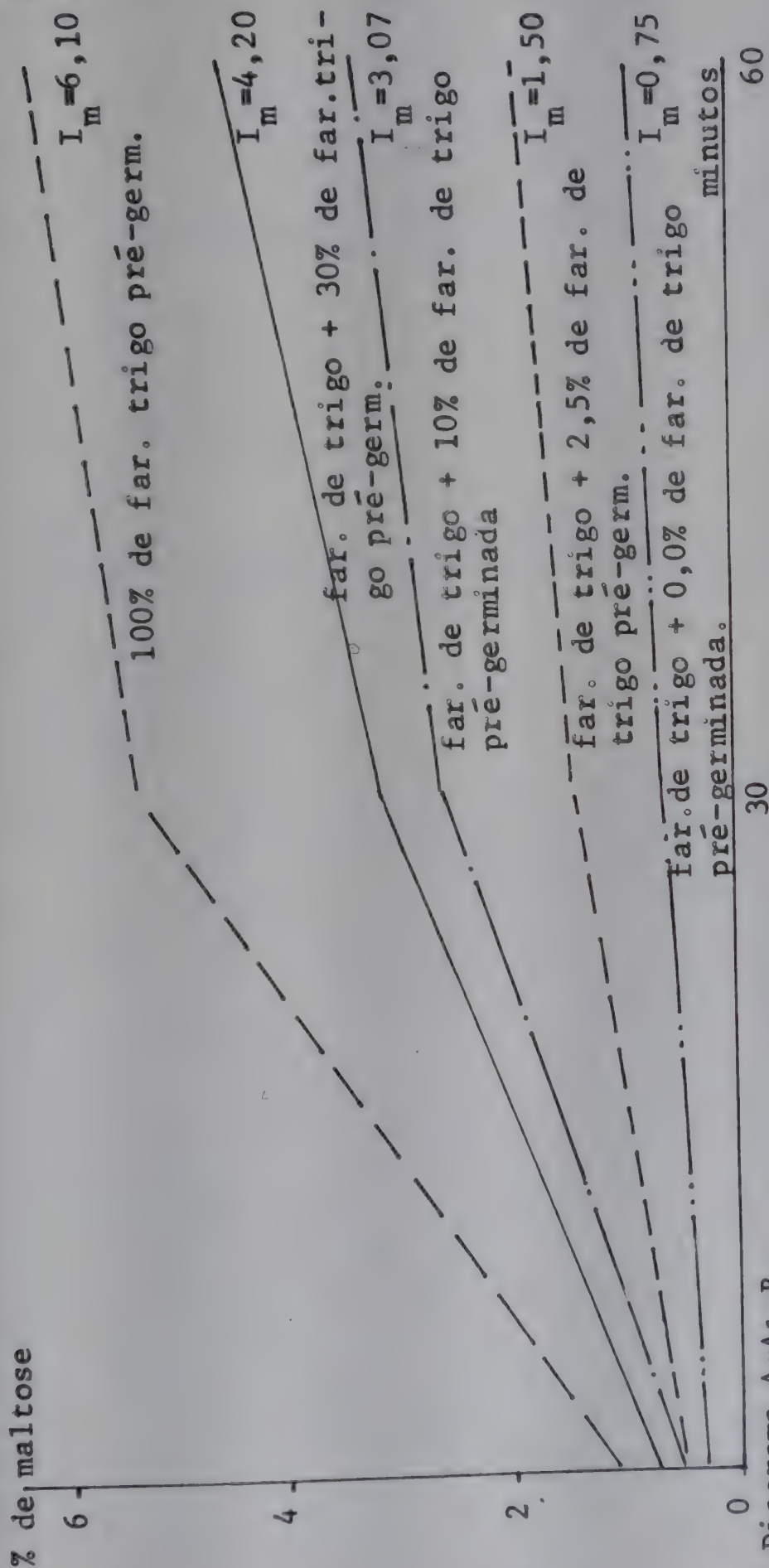
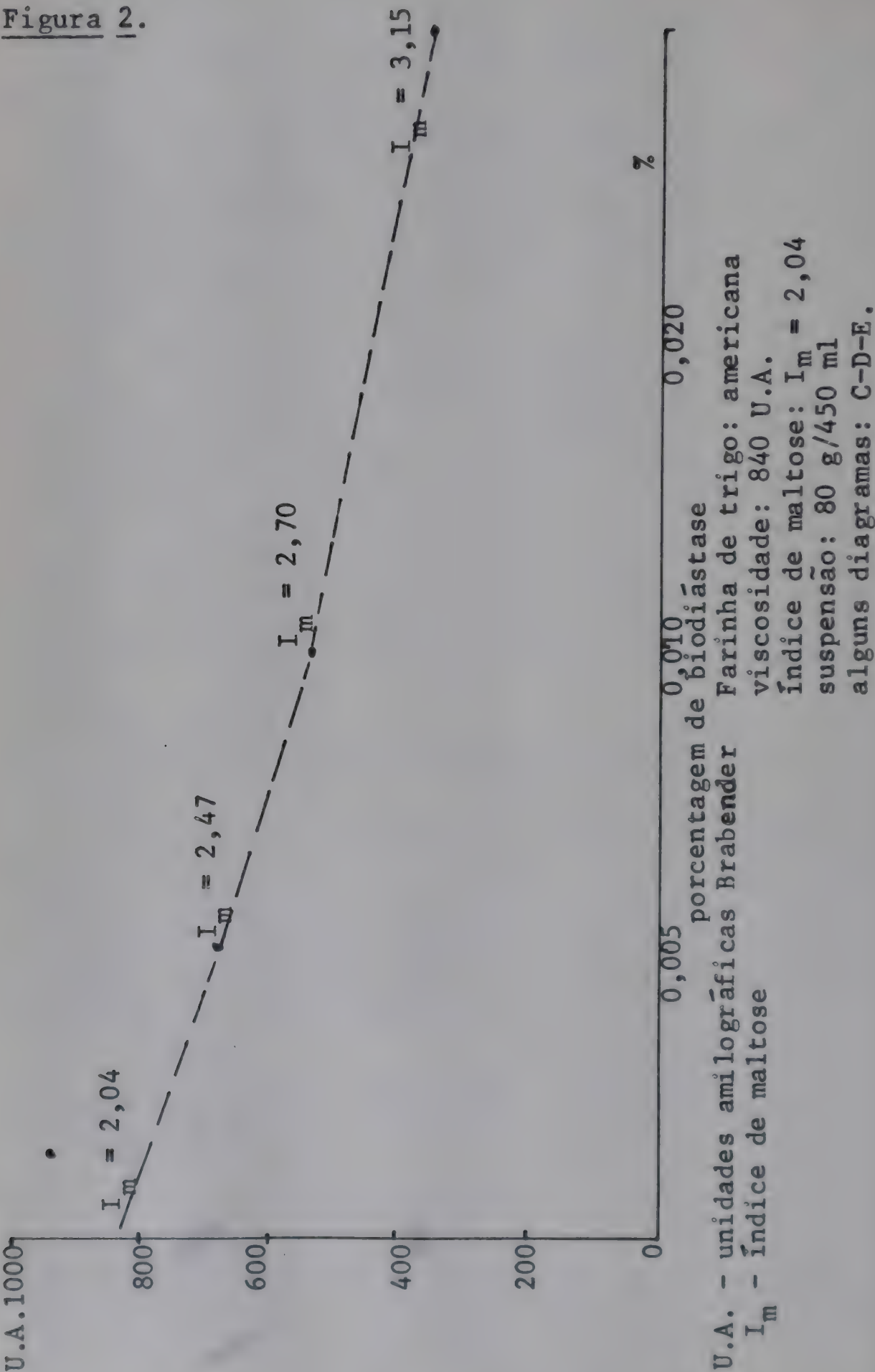




Figura 2.



amido, quantidades determinadas de soluções de ácido lático 1 N ou de hidróxido de sódio 1 N, completando-se, a seguir, a suspensão para 450 ml, mediante adição de água destilada. Obteve-se os seguintes valores de viscosidade (ver Figura 4):

<u>Água destilada + sol.de ác.lático</u> 1 N	<u>Viscosidade em U.A.</u>
450 ml + 0 ml	420
448 ml + 2 ml	420
446 ml + 4 ml	400
440 ml + 10 ml	380
392 ml + 58 ml	360

<u>Água destilada + sol. de hidróxido</u> <u>de sódio 1 N</u>	<u>Viscosidade em U.A.</u>
450 ml + 0 ml	420
446 ml + 4 ml	480
442 ml + 8 ml	550

Pelos valores obtidos, pode-se concluir que a viscosidade varia de acordo com o composto empregado. O ácido lático tem a tendência de diminuir a viscosidade, ao contrário do hidróxido de sódio, porém nas condições dos ensaios, a variação não é significativa. Entretanto, com referência à farinha de trigo, a adição de ácido lático produz resultados diferentes, com variações significativas de viscosidade, o que se deve à presença das amilases, particularmente da alfa-amilase, resistente a altas temperaturas, mas que é sensível à acidez hidrogeniônica ou pH. Sabe-se que o comportamento de uma suspensão de farinha em água, no amilógrafo, é de tal ordem que o aumento de viscosidade começa a partir de uma temperatura que varia de 64 a 70°C, conforme o tipo de farinha. A essa temperatura, o pH ótimo da alfa-amilase situa-se entre 5,7 e 6,1, que são os valores geralmente encontrados para suspensões de farinha de trigo em água. Acontece que mediante adições de ácido lático de solução 1 N, desde 1,0 ml até 6,0 a 8,0 ml, o valor do pH baixa gradualmente, atingindo valores entre 3,0 e 4,0 res-

pectivamente, e, como consequência, a atividade da alfa-amilase diminui sensivelmente e o amido, sendo pouco desdobrado em dextrinas, produz uma viscosidade que tende a aumentar gradualmente.

Os ensaios efetuados com trigo uruguaio mostram o referido comportamento, mediante adição em ordem crescente de solução 1 N desse ácido. O referido trigo é de baixa viscosidade (130 U.A.) e de índice de maltose elevado (2%), o que indica alta atividade amilásica. Pode-se aumentar a viscosidade através do aumento da acidez hidrogeniônica por meio de tais adições, pois que, neste caso, dada a alta sensibilidade da alfa-amilase em face ao aumento de pH, o grau de dextrinização do amido tende a diminuir, como se pode ver pelos resultados abaixo e o gráfico da Figura 5.

Os ensaios foram feitos em suspensão de 80 gramas da farinha de 14% de umidade, em 450 ml de água destilada, inclusive as adições de ácido láctico 1 N.

<u>Ácido láctico 1 N</u>	<u>Viscosidade em U.A.</u>
<u>%</u>	
0,0	130
1,0	130
2,0	130
3,0	130
4,0	370
5,0	510
5,2	680
5,4	760
5,6	840
5,8	920
6,0	940
7,0	950

A viscosidade, inicialmente de 130 U.A. Brabender, passou a ter viscosidade de 680 U.A., mediante adição de 5,2 ml de ácido láctico em 80 g de farinha, depois de completado o volume da suspensão com 444,8 ml de água destilada, e assim por diante. A suspensão



Figura 3.

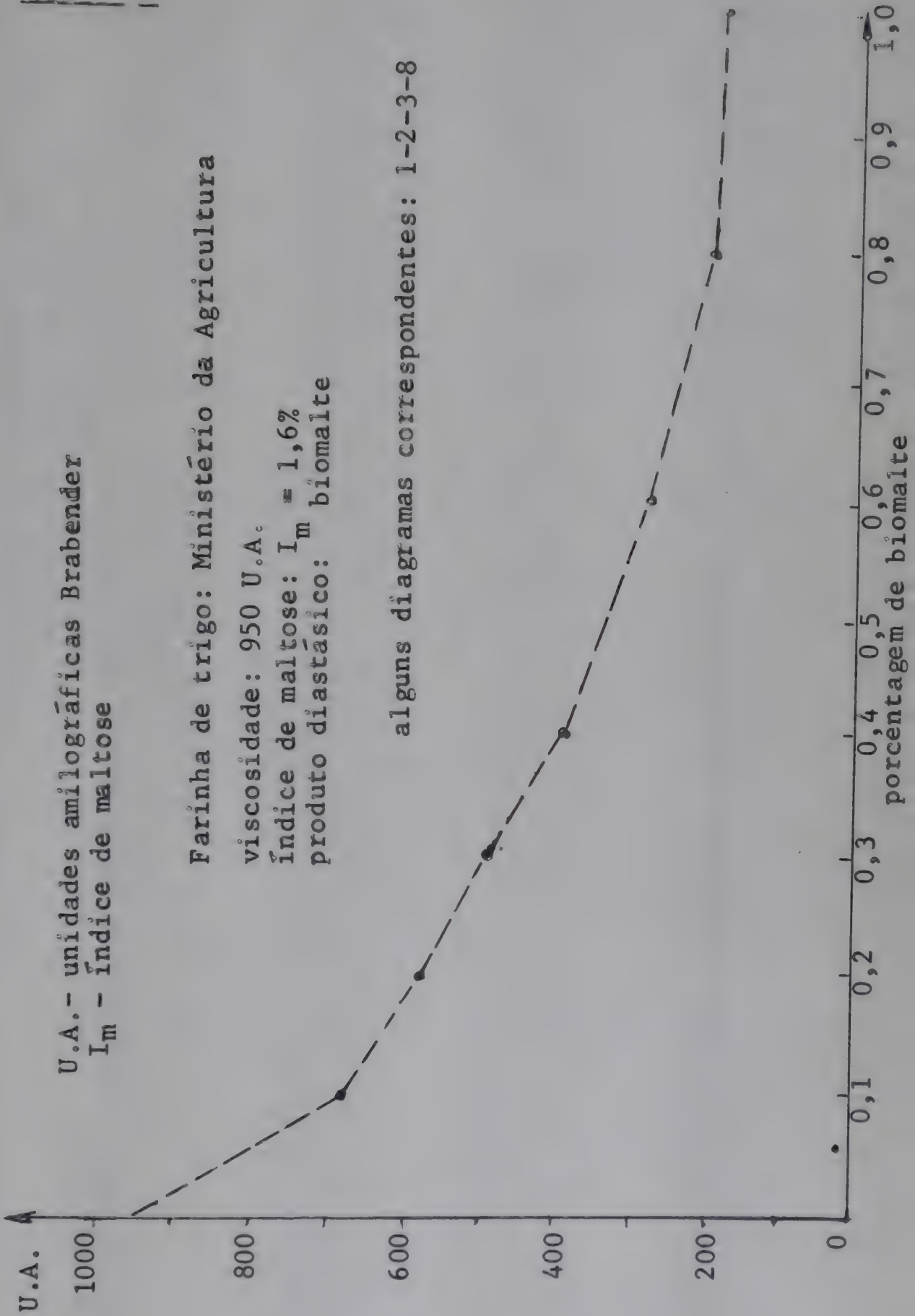
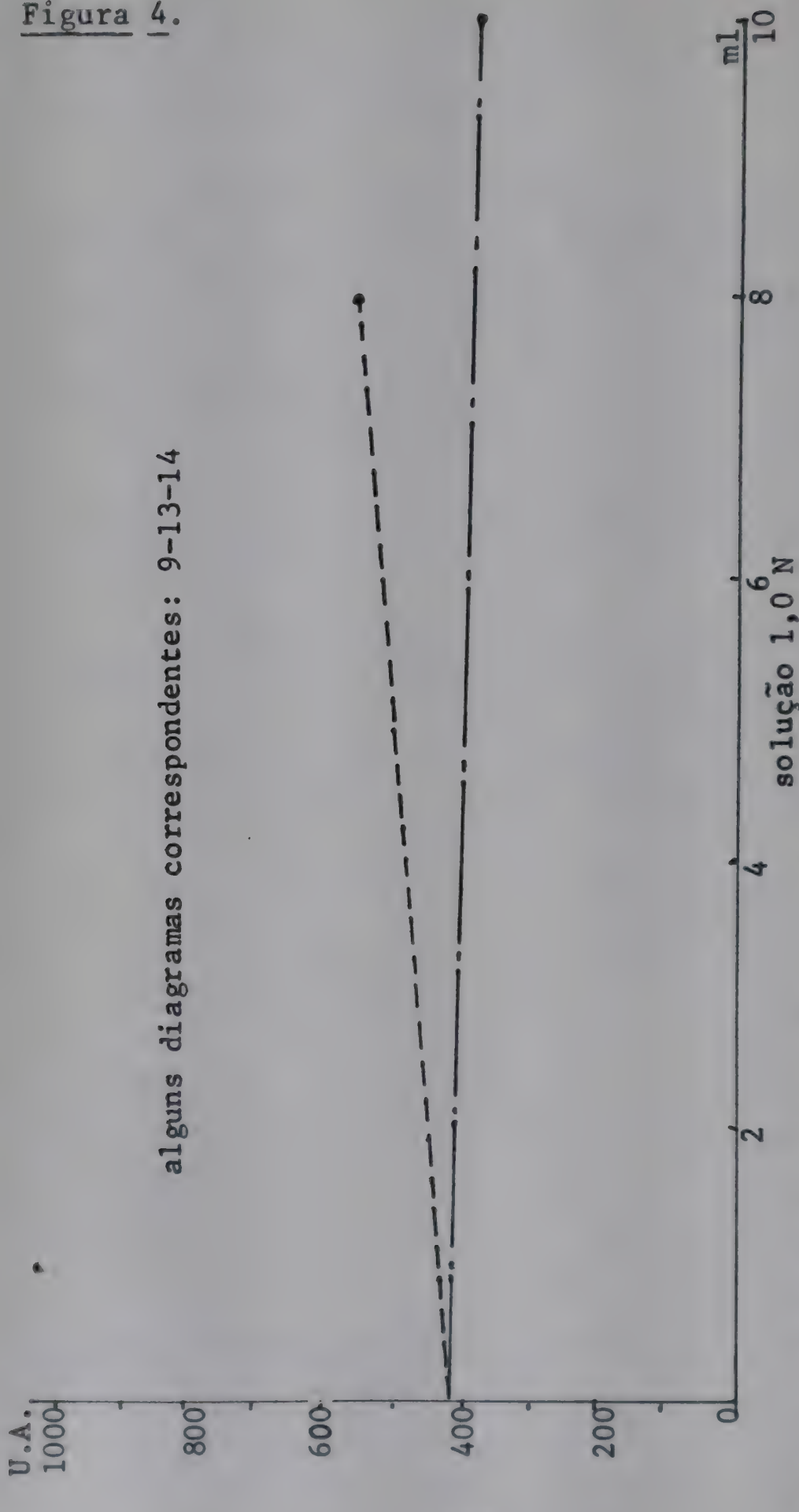


Figura 4.

alguns diagramas correspondentes: 9-13-14



U.A. - unidades amilográficas Brabender  
ml - mililitros

solução 1,0 N

Amido de milho

suspensão de amido: 40 g/450 ml

a) solução de ácido láctico 1,0 N

b) solução de hidróxido de sódio 1,0 N

de 80 g de farinha, calculada na base de 14% de teor de umidade, tendo simplesmente a adição de água destilada para completar o volume a 450 ml, acusou um pH de 5,8, suficiente para dar condições de alta atividade para a alfa-amilase, o que, no exemplo da farinha uruguaia, proporcionou uma viscosidade baixa, de 130 U.A.

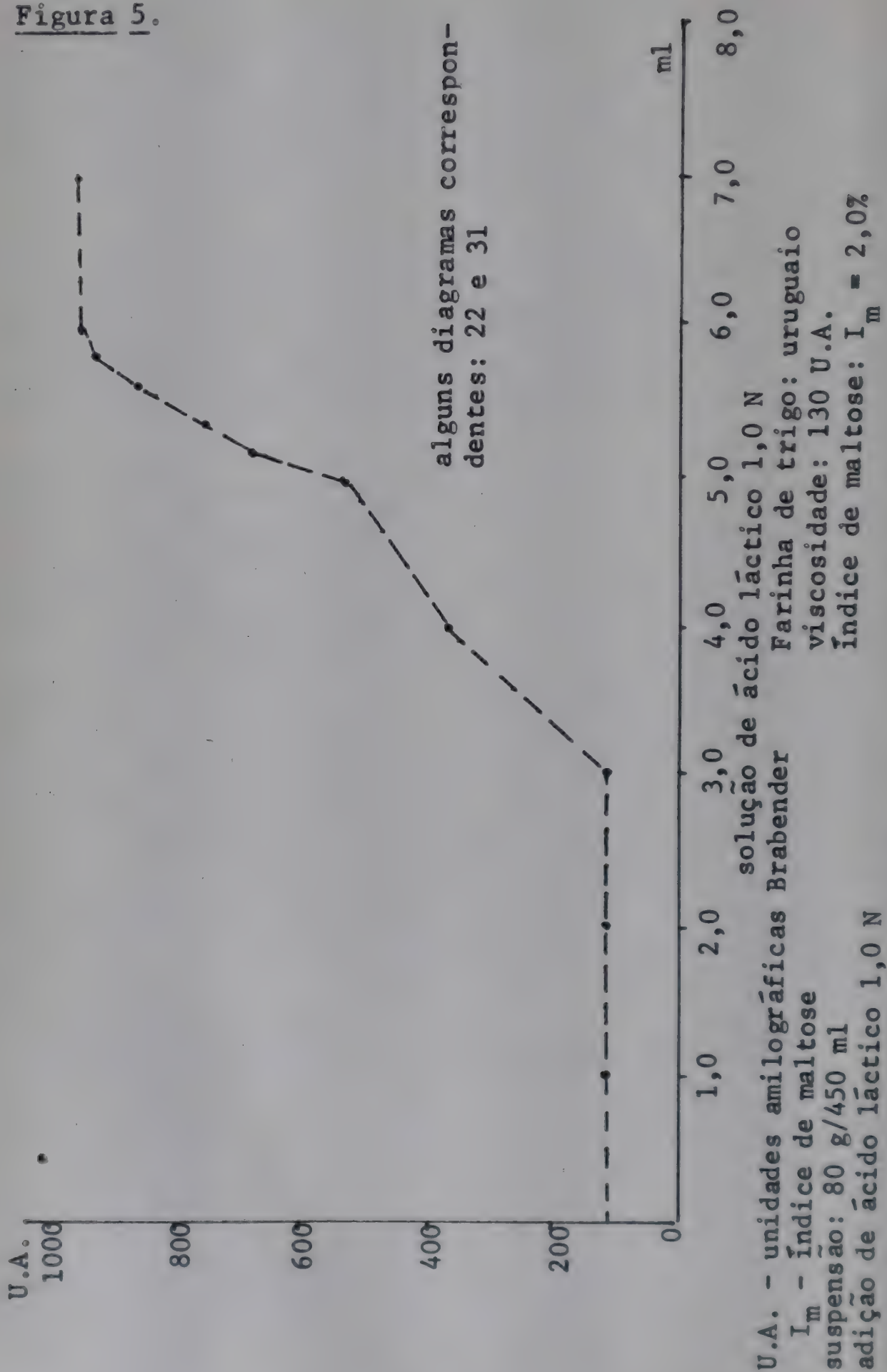
Em virtude das adições em ordem crescente de ácido láctico, houve um aumento da acidez hidrogeniônica na suspensão, provocando uma diminuição gradual da atividade da alfa-amilase, e, como consequência, a viscosidade inicialmente baixa do trigo uruguaio, de 130 U.A., passou a aumentar gradualmente até atingir 950 U.A.

Por outro lado, utilizando a mesma farinha de trigo, verificou-se que o índice de maltose aumenta gradualmente, até atingir um valor máximo para diminuir, em seguida, devido às adições de ácido láctico nas condições citadas. A explicação está no fato de o pH da suspensão de farinha, inicialmente do valor de 5,8, ter diminuído à medida que a suspensão recebia as adições sucessivas de ácido. Neste caso houve aumento da atividade diastásica, que a 27°C tem um pH entre 4,0 e 4,3. O índice, uma vez atingido o máximo, baixa de valor logo em seguida, com o decréscimo nos valores de pH. Os resultados obtidos estão indicados abaixo, para trigo uruguaio de viscosidade de 130 U.A., índice de maltose de 2,0%, pH = 5,8, em suspensão de 30 g em 200 ml que recebeu acréscimo de uma solução 1 N de ácido láctico. (ver Figura 6).

<u>Ácido láctico sol. 1 N</u>	<u>Índice de maltose</u>
<u>ml</u>	<u>%</u>
0,0	2,0
0,5	3,2
1,0	3,4
1,5	3,3
2,0	
4,0	2,4
6,0	2,1
8,0	2,0
10,0	1,9



Figura 5.



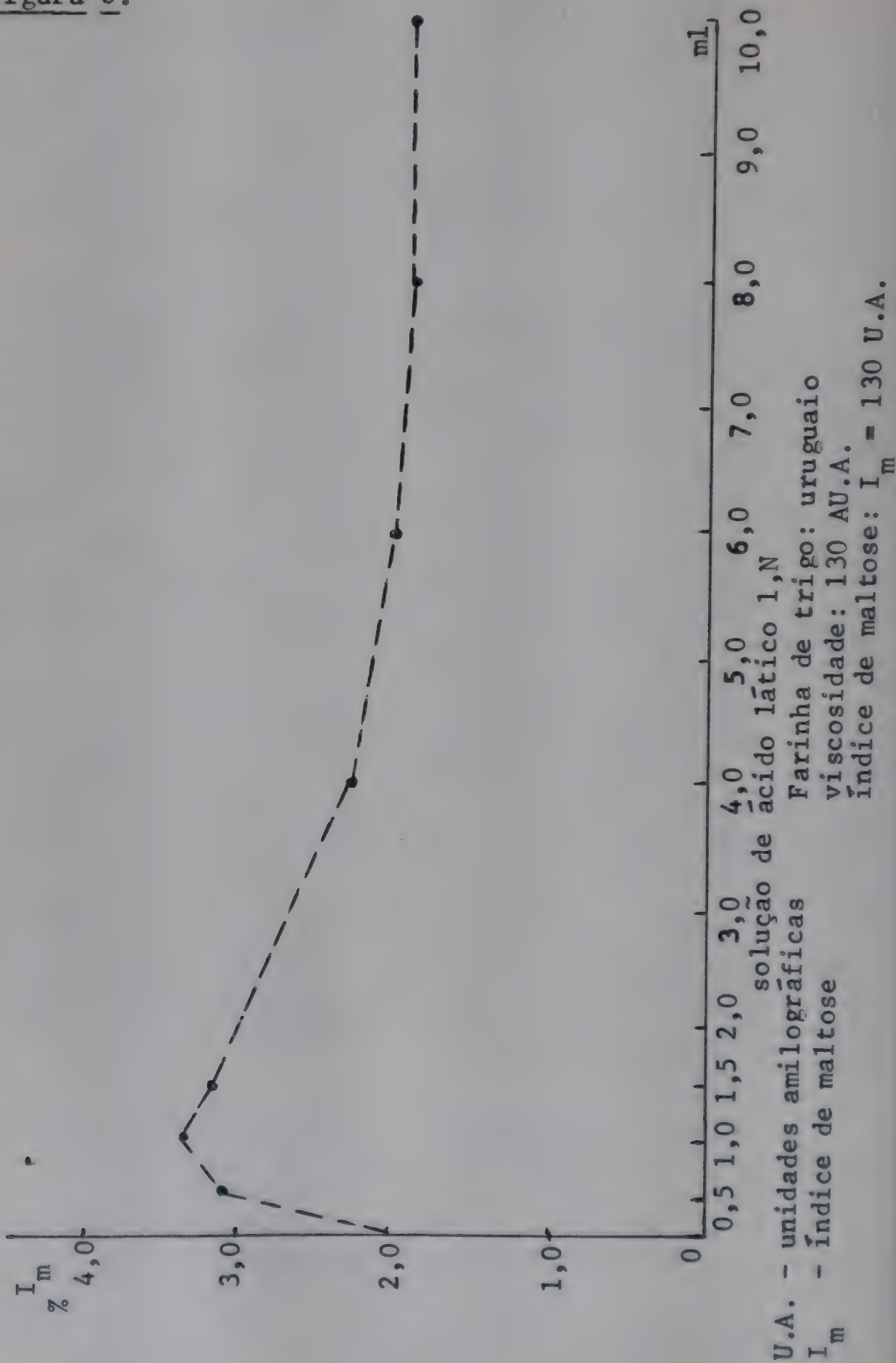
O índice de maltose de 2,0% inicial, ascendeu a 3,4%, com a adição de 1,0 ml de ácido. O índice de maltose já atinge o valor máximo, que daí por diante, vai diminuindo proporcionalmente com os aumentos das adições de ácido láctico. Isso, porque os valores de pH abaixo do pH ótimo, à medida que vão se distanciando deste, reduzem paralelamente a atividade da beta-amilase.

Diante dos resultados obtidos, pode-se dizer que as adições sucessivas de ácido láctico tendem a aumentar a viscosidade de uma suspensão de farinha, registrada no amilógrafo de Brabender, ocorrendo o contrário com determinado produto diastásico que tenha a tendência de baixar a viscosidade, conforme seu grau de atividade. Quanto ao índice de maltose, a adição de ácido láctico aumenta seus valores, até atingir um máximo, para diminuir em seguida. No entanto, a adição de produto diastásico aumenta o índice em grau mais acentuado do que aquele.

Em vista desses resultados, os ensaios seguintes foram baseados na ação conjunta de determinado produto diastásico com o ácido láctico. Os primeiros ensaios foram levados a efeito no amilógrafo, com o objetivo de determinar a viscosidade máxima, em resultado da ação conjunta da adição de biodiástase e de ácido láctico 1 N, conforme mostram os dados do Quadro 2 e o Gráfico da Figura 7, em farinha de procedência americana, com índice de maltose de 1,4% e viscosidade máxima de 860 U.A. Usou-se uma suspensão de 80 gramas de farinha em 450 ml de água, atribuindo-se à farinha um teor de umidade de 14%.

Pode-se considerar a viscosidade como sendo função das quantidades adicionadas de biodiástase e de ácido láctico. Assim, na coluna correspondente a 0,0 ml de ácido láctico, ou seja, sem adição de ácido láctico, a viscosidade, inicialmente alta, de 860 U.A., tende a diminuir segundo o aumento crescente de adição de biodiástase. O mesmo sucede nas demais colunas, porém essa tendência no abaixamento de viscosidade vai

Figura 6.



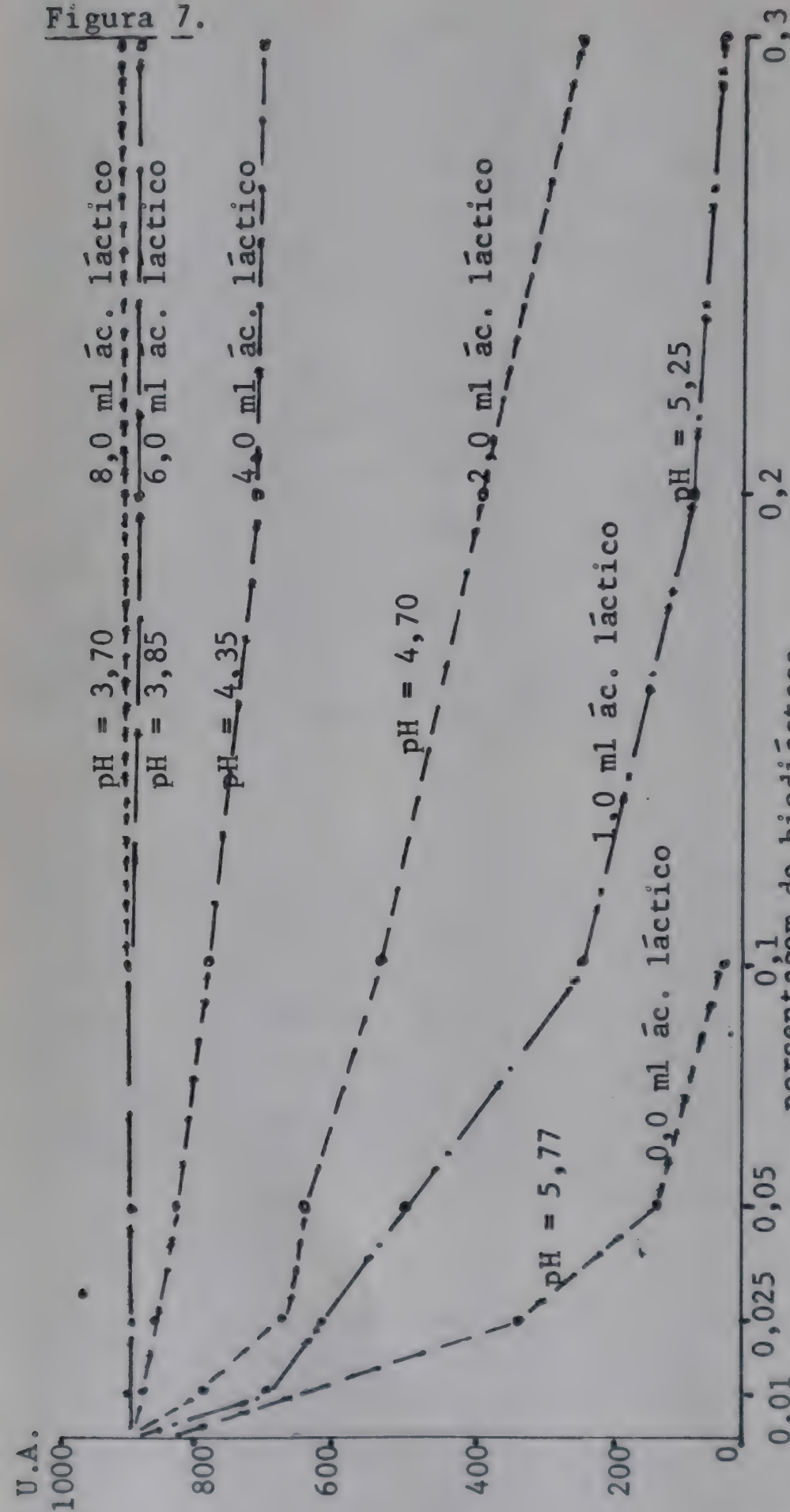


decrecendo à medida que se aumenta a adição de ácido láctico, até um ponto em que a adição de biodiástase não exerce nenhum efeito sobre a viscosidade, conforme se pode observar nos dados da coluna correspondente a adição de 8,0 ml de ácido láctico 1 N, em que a viscosidade mantém-se constante, no valor de 920 U.A. O citado fato da diminuição de viscosidade ser em grau cada vez menor segundo a ordem crescente de adição de ácido, deve-se ao aumento da acidez hidrogeniônica, que de um pH inicial igual a 5,77, passa para um valor final ao redor de 4,0, correspondente à adição de 8,0 ml de ácido. O valor de  $\text{pH} = 5,77$  situa-se nas vizinhanças do pH ótimo da alfa-amilase, podendo-se ver que, para determinada adição de biodiástase, as adições crescentes de ácido tendem a diminuir os valores de pH, até atingir os limites correspondentes a uma diminuição gradual da atividade da alfa-amilase e, concomitantemente, um aumento crescente de viscosidade desde zero U.A. até o máximo registrado no amilógrafo, em função da ação conjunta de biodiástase e ácido láctico.

Utilizando-se da mesma farinha, isto é, de índice de maltose 1,4% e viscosidade 860 U.A., procedeu-se à determinação do índice de maltose, em duas séries de amostras, a saber: a primeira, sem adição de biodiástase e a segunda com 0,1% de biodiástase. Ambas as séries receberam adições crescentes de ácido láctico 1 N, obtendo-se os resultados indicados no Quadro 3 e no Gráfico da Figura 8. Foram preparados suspensões de 10 gramas de farinha e 100 ml de solução de ácido láctico mais água destilada.

Observa-se, pelos dados do Quadro 3, que a temperatura de  $27^{\circ}\text{C}$  a atividade diastásica tem seu ótimo em torno de 3,9, que corresponde à coluna sem adição de biodiástase, e  $\text{pH} = 3,7$ , àquela com adição de 0,1% de biodiástase. Verifica-se, em cada coluna, um aumento gradual da porcentagem em maltose até atingir o valor máximo, para diminuir gradualmente, em se-

Figura 7.



U.A. - unidades amilográficas Brabender  
 $I_m$  - índice de maltose  
 ml - mililitros  
 solução de ácido láctico: 1,0 N  
 diagramas correspondentes: 33-37-44-46-  
 -49-56-58-63

Farinha de trigo: americano  
 viscosidade: 860 U.A.  
 índice de maltose:  $I_m = 1,4\%$   
 pH = 5,77



guida. Verifica-se, também, que a adição de biodiástase eleva sensivelmente as porcentagens de maltose. Assim, o valor máximo de porcentagem de maltose para 0,1% de biodiástase foi de 5,8%, ao passo que sem essa adição, a porcentagem é bastante menor, de 2,1% apenas.

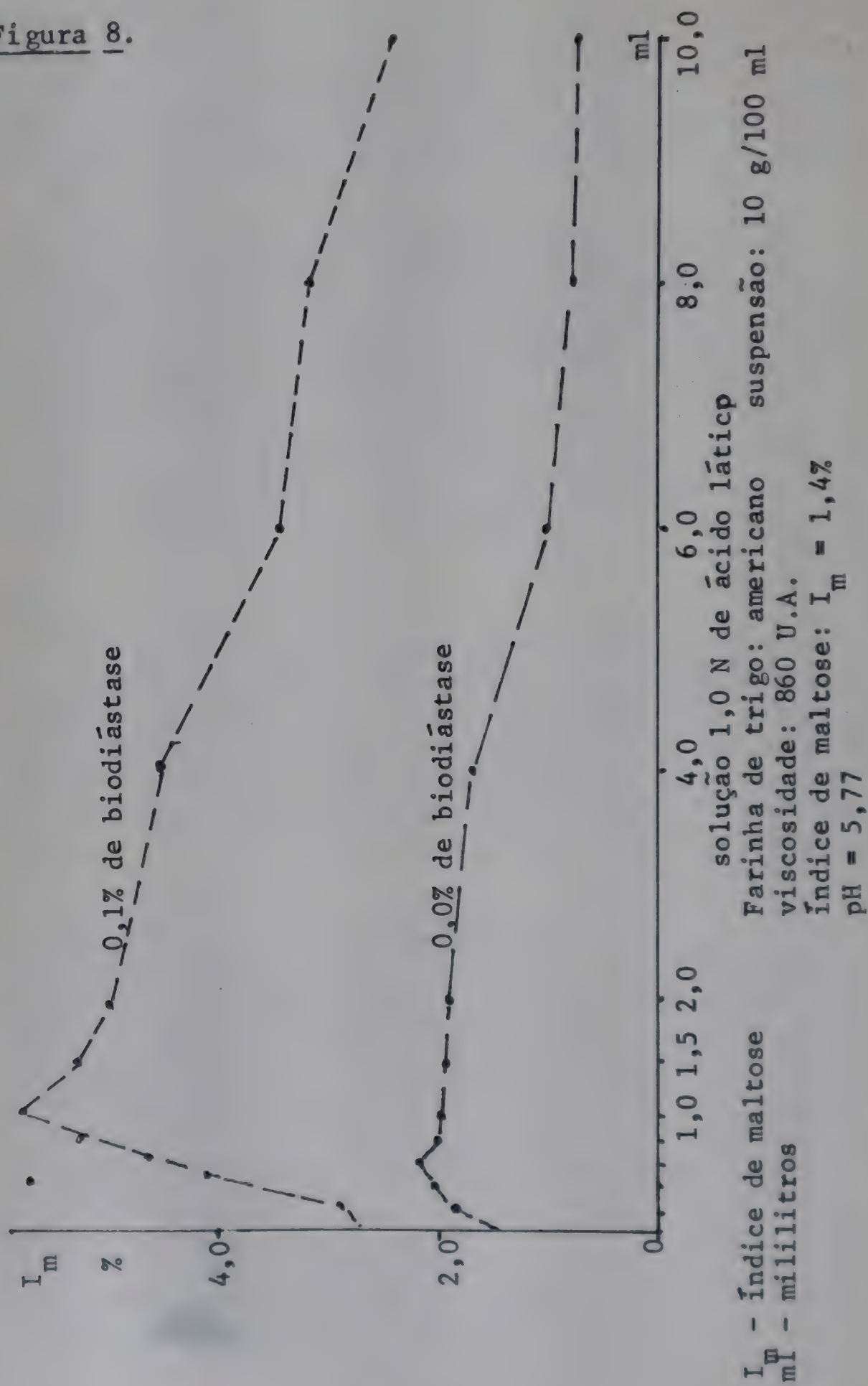
O efeito da adição de biodiástase para aumentar o índice de maltose é mais acentuado do que o da adição de ácido láctico. Por outro lado, quanto à variação da viscosidade no amilógrafo, a biodiástase tem efeito inverso ao do ácido láctico. Portanto, conforme a característica da farinha em relação à atividade amilásica, pode-se recorrer à biodiástase e ao ácido láctico, conjuntamente ou não, a fim de proceder sua correção, seja no índice de maltose ou na viscosidade ou em ambos.

Resultados semelhantes foram observados mediante a utilização de solução 1 N de hidróxido de sódio, conforme mostram os dados do Quadro 4 e o Gráfico da Fig. 9, em suspensão de 80 gramas de farinha em 450 ml de solução de hidróxido e água destilada, com adição de farinha de trigo de grãos pré-germinados como material diastásico.

As mesmas considerações são feitas à atividade da alfa-amilase em relação à concentração hidrogeniônica, de acordo com os resultados do Quadro 4. Assim, sem a adição de hidróxido de sódio, a acidez em torno de 5,5, permitiu o abaixamento da viscosidade pela adição de farinha de trigo de grãos pré-germinados em porcentagem crescente e em intensidade maior do que em relação à adição de 2,0 ml de hidróxido de sódio, que elevou o pH a cerca de 7,5. A adição de 8,0 ml de hidróxido de sódio, com elevação do pH para 10,7, revela ausência de ação da alfa-amilase, com viscosidade atingindo o valor máximo de 950 U.A., bem como valores acima deste, conforme se observa no Quadro 4, na coluna correspondente.



Figura 8.



Quadro 2. Valores de viscosidade obtidos para farinha americana para as diferentes adições de ácido láctico 1 N e biodiástase.

Adição de biodiástase	Adição de solução de ácido láctico 1 N				6,0 ml pH 3,85	8,0 ml pH 3,70
	0,0 ml pH 5,77	1,0 ml pH 5,25	2,0 ml pH 4,70	4,0 ml pH 4,35		
%						
0,000	860	920	920 ac	920 ac	920 ac	920 ac
0,010	640	710	780	900	920 ac	920 ac
0,025	340	640	680	880	920 ac	920 ac
0,050	140	520	650	840	920 ac	920 ac
0,100	40	250	550	770	920	920 ac
0,200	00	70	400	720	900	920 ac
0,300	00	50	260	700	900	920 ac

Quadro 3. Índices de maltose obtidos para farinha americana com e sem adição de bídíãstase e adições crescentes de ácido lático.

pH	Solução de ácido lático 1 N	Índices de maltose e adição de bídíãstase	
		0,0%	0,1%
	<u>ml</u>		
5,7	0,0	1,4	2,8
4,5	0,2	1,9	3,1
4,1	0,4	2,0	4,2
3,9	0,6	2,1	4,8
3,8	0,8	2,0	5,3
3,7	1,0	1,9	5,8
3,4	1,5	1,9	5,3
	2,0	1,8	5,0
	4,0	1,7	4,3
3,1	6,0	1,2	3,5
2,8	8,0	0,9	3,2
2,7	10,0	0,8	2,3
2,6	15,0		1,7



Quadro 4. Valores de viscosidade de farinha americana com adições crescentes de solução 1 N de NaOH e farinha de trigo de grãos pré-germinados.

Farinha de trigo de grãos pré-germinados	Adições de NaOH 1 N em mililitros				
	0,0	1,0	2,0	5,0	8,0
<u>%</u>					
0,00	840	950	950 ac	950 ac	950 ac
0,25	530	710	950	950 ac	950 ac
0,50	360	530	830	950 ac	950 ac
1,00	240	360	600	950 ac	950 ac
2,00	190	240	450	950 ac	950 ac
3,00	135	190	380	860	950 ac
4,00	100	150	310	800	950 ac
5,00		140	270	750	950 ac
6,00				690	950 ac
.					.

## Farinhas mistas

As farinhas mistas, resultantes da mistura de farinha de trigo e outras farinhas não panificáveis, necessitam de uma atividade amilásica equilibrada, quando consideradas para fins de panificação. Os ensaios realizados sobre o comportamento da farinha de soja em adições crescentes à farinha de trigo, mostram que a atividade diastásica não é a mesma em relação ao da farinha de trigo original.

Os ensaios constaram da determinação do grau de acidez das amostras ou acidez titulável com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, e da determinação da acidez hidrogeniônica ou pH. Logo a seguir, determinou-se o índice de maltose, em relação às temperaturas 27, 35 e 39°C, respectivamente. Os resultados obtidos constam do Quadro 5 e estão representados no Gráfico da Figura 10. Esses resultados foram obtidos de farinha em suspensão, na base de 10 gramas por 100 ml, com índice de maltose de 1,0%.

Quadro 5. Valores do índice de maltose das farinhas de trigo com adições crescentes de farinha de soja a diversas temperaturas.

Adições de farinha de soja e fari- nha de tri- go	Acidez em ml de Na OH 0,1 N	pH	Porcentagem de maltose às temperaturas de:		
			27°C	35°C	39°C
%					
0,0	3,2	5,45	1,0	1,3	1,5
5,0	4,7	5,75	0,7	0,9	1,2
• 10,0	6,5	6,05	0,6	0,7	0,9
15,0	7,9	6,15	0,6	0,7	0,9
20,0	9,3	6,20	0,5	0,7	0,7
40,0	15,6	6,22			
80,0	27,5	6,35			
100,0 (soja)	33,0	6,35			



O aumento progressivo da acidez titulável em NaOH deve-se às adições crescentes de farinha de soja à farinha de trigo. O inverso ocorre com a acidez hidrogeniônica, que varia de pH 5,45, para a farinha de trigo sem adição de farinha de soja, a 6,35 para a farinha de soja desengordurada. Esse comportamento da farinha mista, deve-se ao elevado teor de proteína da farinha de soja desengordurada. O índice de maltose diminui gradualmente, pois que a atividade diastásica expressa por esse índice, que a 27°C tem pH ótimo em torno de 4,0, é menor em relação aos valores de pH encontrados nas amostras com soja, visto que estes se distanciam gradualmente do citado pH ótimo.

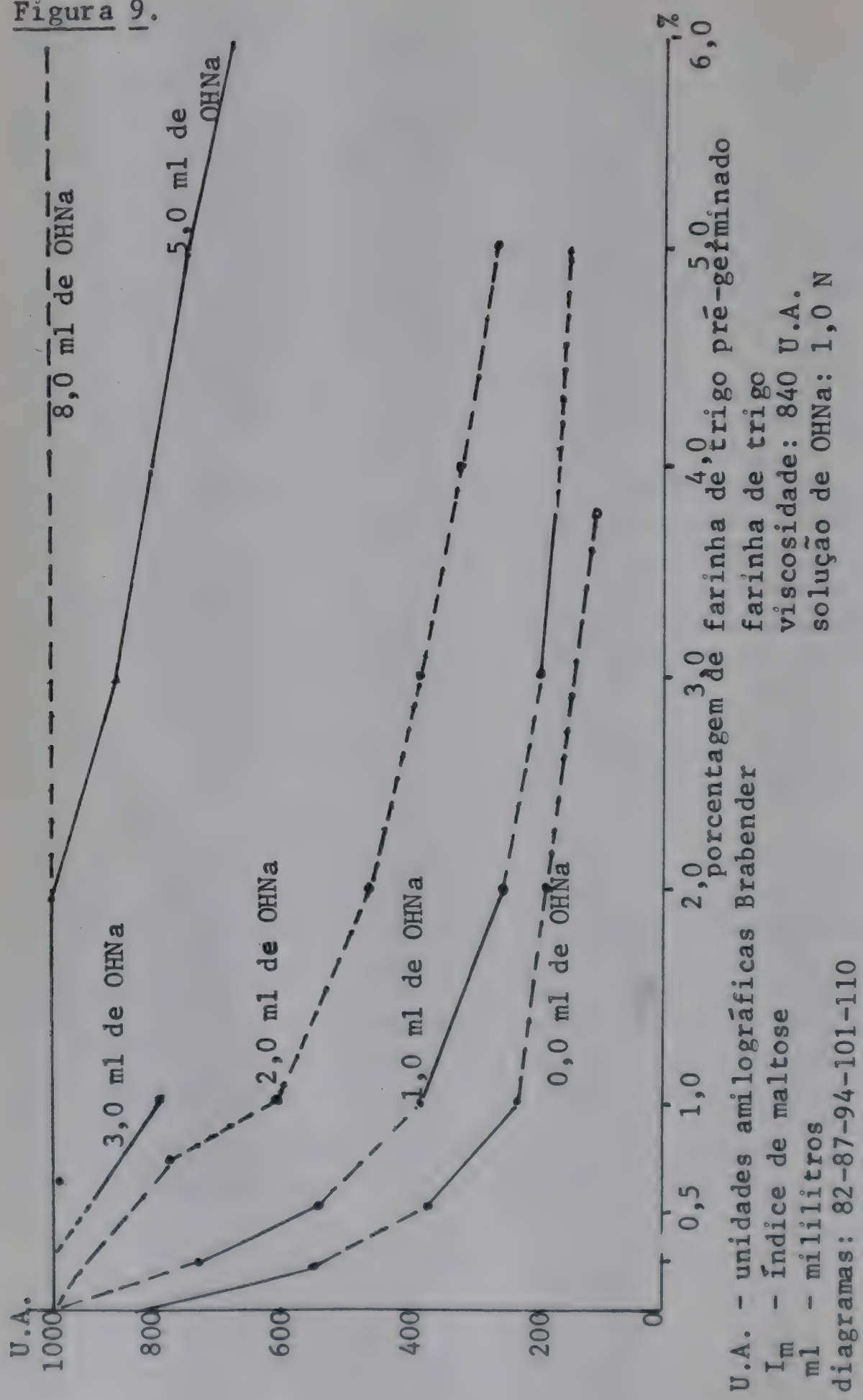
Os ensaios relativos ao tratamento da suspensão de farinha mista de trigo e soja, às temperaturas de 35°C e 39°C, contribui para o aumento da porcentagem de maltose, o que vem a ser uma das condições para a produção equilibrada de açúcares fermentescíveis durante a fermentação da massa a partir da citada farinha mista. Portanto, o aumento de temperatura de fermentação, que normalmente é ao redor de 26°C, contribui para uma expansão mais acentuada da massa feita de farinha mista.

Os ensaios realizados com farinha mista com posta de 50% de farinha de trigo americano ( $I_m = 2,1\%$ ), 35% de amido de milho e 15% de farinha de soja desengordurada, mostram as diferenças de atividade diastásica em relação à da farinha de trigo original e as possibilidades de seu aumento mediante a adição de farinha de trigo de grãos pré-germinados. A farinha resultante sofreu adições do citado produto diastásico, com os seguintes resultados em relação ao índice de maltose:

Farinha de trigo de grãos pré-germinados	Índice de maltose de farinha mista
%	$I_m$
0,0	1,1
1,0	1,5
2,0	1,9
3,0	-
4,0	2,5
7,0	2,8



Figura 9.



Os dados mostram que a farinha mística resultante, de índice de maltose igual a 1,1%, tem uma atividade menor do que a da farinha de trigo original, empregada na mistura, cujo índice de maltose é igual a 2,1%. Portanto, a adição de produto diastásico é necessária para uma atividade equilibrada, desde que o mesmo não venha provocar uma dextrinização excessiva, que pode ser prejudicial ao miolo do pão.

### Adição de sal orgânico

Os ensaios de adição de glutamato monossódico à farinha de trigo de viscosidade máxima 840 U.A., mostram os seguintes resultados:

<u>Farinha de trigo</u>	<u>Adição de glutamato</u>	<u>Viscosidade</u>
<u>g</u>	<u>g</u>	<u>U.A.</u>
80,0	0,0	840
79,0	1,0	870
78,0	2,0	895
77,0	3,0	930

A adição crescente desse sal orgânico mostra que há uma tendência no aumento progressivo da viscosidade.

### CONCLUSÕES

Sabe-se que o poder de gaseificação da farinha de trigo pode ser aumentado, mediante adição de produtos altamente diastásicos, quando ela apresenta sinais de deficiência de atividade, expressa pelo baixo índice de maltose.

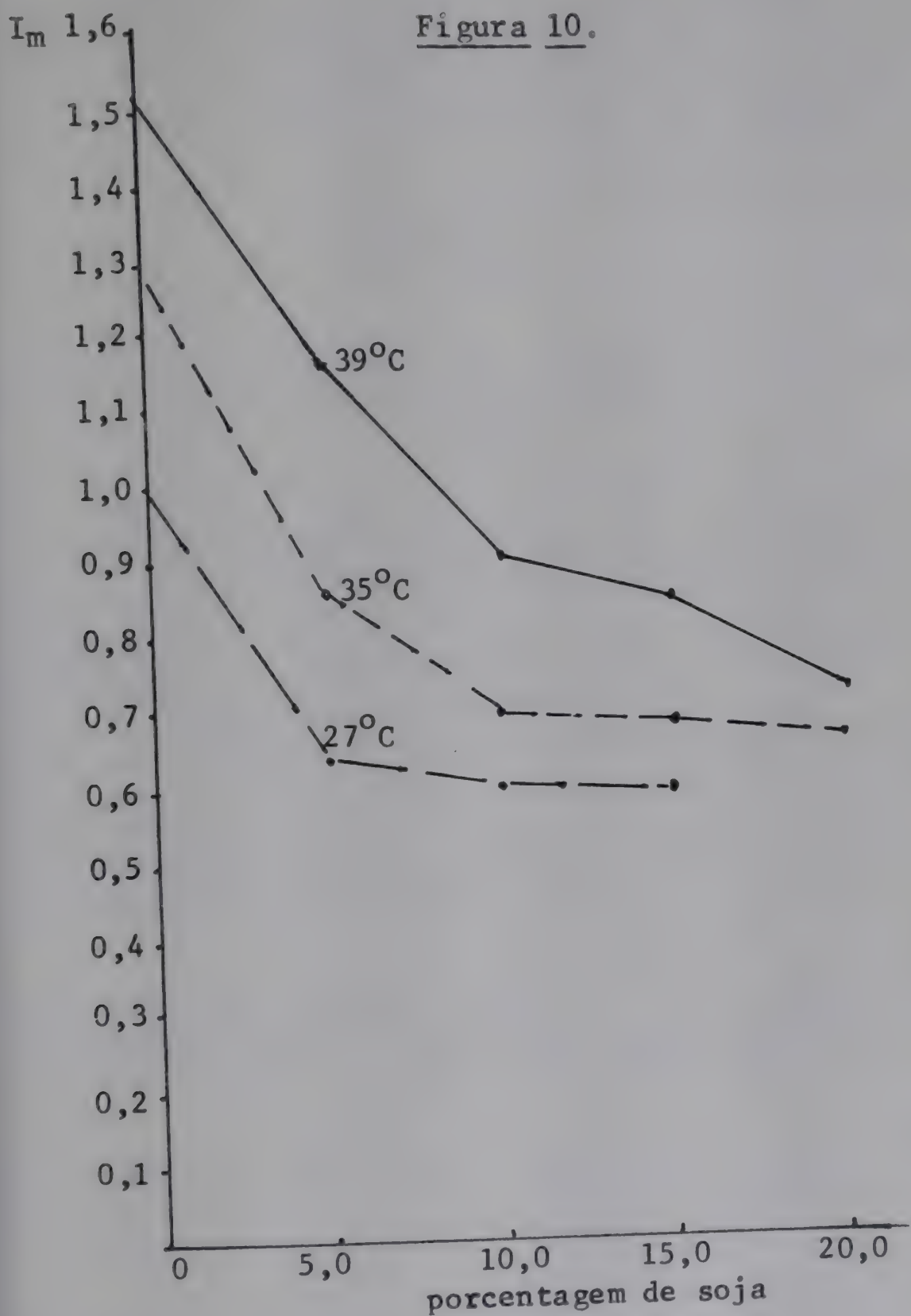


Tais produtos também influenciam na viscosidade de uma suspensão de farinha em água, modificando-a, como foi verificado nos ensaios com o amilógrafo. Como esta viscosidade, determinada em aparelho especialmente construído para fins de panificação, tem relação estreita com a qualidade do miolo de pão, a adição de um determinado produto diastásico, com a finalidade de aumentar o índice de maltose, não deverá afetar tal viscosidade a ponto de diminuí-la a valores abaixo de um limite estipulado, de acordo com as normas ditadas pela panificação.

Entretanto, nem sempre determinado produto diastásico é capaz de aumentar o índice de maltose, com vistas a uma atividade equilibrada, sem diminuir a viscosidade, que pode atingir valores abaixo do limite mínimo permitido, conforme observou-se durante os ensaios. Diante desses problemas, a finalidade do trabalho residiu no emprego de ácidos e bases, entre os quais o ácido láctico, que aumentam a viscosidade, permitindo assim, em ação conjunta com determinado produto diastásico, todas as variações possíveis de serem registradas no amilógrafo, desde o mínimo até o máximo permitido pelo aparelho.

No decorrer dos ensaios verificou-se que a variação de viscosidade de uma suspensão de amido não é significativa, diante das adições de ácido ou base nas quantidades assinaladas. Isso permite concluir que a variação da viscosidade em determinada farinha de trigo, diz respeito à presença dos enzimas amilásicos, cuja atividade está na dependência da acidez hidrogênica, expressa através do pH. Assim, a alfa-amilase, presente na farinha e nos produtos diastásicos empregados, tem sua atividade regulada de acordo com as variações nos valores do pH, os quais, por sua vez, dependem das quantidades adicionadas de ácido ou base, de acordo com as condições definidas nos respectivos ensaios. A atividade da beta-amilase, por sua vez, também depende do pH, conforme foi visto na determinação do índice de maltose das amostras que sofreram adições sucessivas de solução 1 N de ácido láctico.





Farinha de trigo  
suspensão: 10 g/100 ml  
índice de maltose: 1%  
inativação: após 60 minutos

Este trabalho, como foi visto através dos respectivos ensaios, permitiu estabelecer condições que são básicas na solução dos problemas relativos à regulamentação da atividade diastásica nas farinhas mistas

## LITERATURA

1. ECKARDT, O. Getreide-und Mehluntersuchung. Verlag Moritz Schäfer, Detmold, Germany. 112 p., 1957.
2. HLYNKA, I. Wheat-Chemistry and Technology. The American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, First-ed. 603 p., 1964.
3. JANDER, G. & JAHR, K.F. Massanalyse. Theorie und Praxis der Klassischen und der Elektrochemischen Titrierverfahren. Walter de Gruyter & Co., Berlin, 313 p., 1961.
4. KENT-JONES, D.W. & AMOS, A.J. Modern Cereal Chemistry. Food Trade Press Ltd. London, 6 th ed. 730 p., 1967.
5. PELSHENKE, P.F. Brotgetreide und Brot. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg, Germany, Fünfte aufl. p. 622, 1954.
6. SCHÄFER, W. Brot in unserer Zeit. Verlag Moritz Schäfer. Ergebnisse und Probleme der Getreide forschung. Detmoldt, Germany, p. 250, 1966.

## PRODUÇÃO DE AMÍLASE FÚNGICA E SUA APLICAÇÃO NA PANIFICAÇÃO

Y.K. Park  
R.S. Papini  
W.R. Bär  
Policarpo Vitti

### RESUMO

*Foi tentada a produção de amílase fúngica por culturas semi-sólidas e submersas. Utilizou-se o Aspergillus oryzae NRRL 695 para a produção do enzimo.*

*Após fermentação, o enzimo foi obtido por precipitação de solvente orgânico. A atividade alfa-amílase dos produtos de ambos os processos foi comparada, verificando-se que aqueles da cultura semi-sólida mostraram atividade mais alta em comparação com a do outro processo.*

*Ambos os produtos foram testados para qualidade de panificação, demonstrando-se que a alfa-amílase daquela linhagem do fungo produzia pão de boa textura e maior volume.*

### SUMMARY

*PRODUCTION OF FUNGY AMYLASE AND ITS APPLICATION IN BAKING INDUSTRY. It was attempted to produce a fungal amylase in semi-solid culture and submerged culture. Aspergillus oryzae NRRL 695 was used for the production of the enzyme.*



After fermentation, the enzyme was obtained by organic solvent precipitation. Alpha-amylase activity of the products from both methods was compared, and it was found that the products from the semi-solid culture method showed high enzyme activity as compared to the product from the submerged culture method.

Both products were tested for baking quality, and it was shown that alpha-amylase from this strain produced good texture and greater bread volume.

## INTRODUÇÃO

No transcurso desta última década, o estudo sobre enzimas fúngicos e suas aplicações práticas tem tido um enorme desenvolvimento.

Ênfase especial tem sido dada aos estudos sobre aplicação desses enzimas no campo da indústria de alimentos, têxtil e farmacêutica, bem como na manufatura de álcool etílico.

Takamine (1) foi o primeiro a introduzir o método para a produção de amilase pelo método de cultura semi-sólida, tendo sugerido o uso de um produto preparado pelo crescimento do fungo *Aspergillus oryzae* em farelo de trigo, como substituto do malte no processamento de álcool a partir de grãos de cereais.

Esse processo foi também empregado por Underkofler e outros (2), que obtiveram em seus trabalhos bons resultados. Hao e outros (3, 4), Roberts e outros (5), Jeffreys (6) e mesmo Underkofler (7), em seus trabalhos, fazem menção do uso em escala comercial dessa amilase fúngica, preparada pelo método de cultura semi-sólida, na produção de álcool etílico.

Van Lanen e outros (8), em seus trabalhos de pesquisa, foram os primeiros a divulgar o uso da amilase fúngica sob forma líquida, obtida pelo crescimento do fungo *Aspergillus niger* NRRL 337 segundo o método de cultura submerso, para substituir o malte na produção de álcool etílico.

Vários pesquisadores, como Adams e outros (9), Le Mense e outros (10), e Tsuchiya e outros (11), publicaram seus trabalhos e resultados de pesquisa utilizando o método de fermentação submerso para o desenvolvimento do *Aspergillus niger* NRRL 337, relatando altas atividades enzimicas em alfa-amilase e maltase.

Mais recentemente, o emprêgo de amilase fúngica para melhorar as qualidades de panificação, tem recebido especial atenção em vários trabalhos de pesquisa, avaliando-se que cerca de 75% de todo o pão produzido nos E.U.A., envolvem o uso de enzimas fúngicos (12). Johnson e Miller (13, 14) referiram-se em seus trabalhos, que a farinha de trigo produzia um pão de qualidade superior quando elaborada com amilase fúngica, comparando com o pão resultante da mesma farinha, porém elaborada com malte.

O objetivo deste trabalho é a produção de amilase fúngica pelos métodos de cultura semi-sólido e submerso, utilizando estirpes selecionadas de *Aspergillus oryzae*, e sua aplicação em panificação.

## MATERIAL E MÉTODO

Neste trabalho foram empregadas diversas linhagens de *Aspergillus oryzae*, sendo que a linhagem NRRL 695 foi a que apresentou melhores resultados nas provas de panificação no laboratório do ITAL.



## Produção de amilase fúngica pelo método de cultura semi-sólido

A cultura estoque de *Aspergillus oryzae* NRRL 695, foi mantida em tubo de ensaio contendo o meio de cultura de Czapek (15), à temperatura de 40°C.

Transferências periódicas foram executadas de 6 em 6 meses.

Para a inoculação no meio de cultura semi-sólido, o microrganismo foi previamente mantido em um meio de cultura contendo extrato de malte-levedura-agar (15), o qual propicia maior esporulação do fungo. Transferências periódicas foram executadas neste meio de cultura, mensalmente.

O meio de cultura semi-sólido para o desenvolvimento de microrganismo em questão, foi preparado com 10 gramas de uma mistura contendo 85% de farelo de trigo, 10% de farinha de soja desengordurada e 5% de fubã de milho, umedecida com 5,5 ml de uma solução 0,2 N de ácido clorídrico.

Esses 10 gramas do meio de cultura semi-sólido, contidos num Erlenmeyer de 250 ml, foram esterilizados em autoclave a 121°C por 20 minutos, esfriados e inoculados com os esporos do microrganismo em questão. A incubação foi feita a 30°C por 48 horas. Após o desenvolvimento dos esporos do microrganismo, inoculou-se uma quantidade maior - um quilograma - do mesmo meio de cultura, que foi incubado nas mesmas condições acima descritas.

Após esse período de incubação, o farelo fúngico ("mold bran") foi submerso em água (1 kg de farelo fúngico em 10 litros de água), deixando-se durante três horas com agitação intermitente, com a finalidade de extrair o enzima.



Após completa extração do enzimo, o líquido foi separado por filtração, provocando-se, a precipitação do enzimo pela adição do álcool etílico à temperatura de 4°C durante 12 horas (uma noite). Após a precipitação, decantou-se o líquido sobrenadante, submetendo-se o líquido viscoso que continha os enzimos, a uma centrifugação com a finalidade de eliminar completamente a água. Finalmente, a parte sólida liofilizada é moída até a obtenção de um pó bem fino.

#### Produção de amilase fúngica pelo método de culturas submerso

A composição do meio de cultura utilizado foi a seguinte:

97,5 ml de vinhaça de destilaria de cereais, contendo 7% de sólidos.

2,0 g de fubá de milho.

0,5 g de carbonato de cálcio.

O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,5.

O inóculo foi preparado em um tubo de ensaio contendo extrato de levedura-malte-ágar, como já foi descrito para o método de cultura semi-sólido.

Uma alça de fungo esporulado serviu como inóculo em 50 ml do meio de cultura esterilizado, contido em um Erlenmeyer de 250 ml, incubado a 30°C em um agitador rotativo a 150 r.p.m. durante 30 a 35 horas. Esses 50 ml serviram para incubar 5,5 litros do mesmo meio de cultura esterilizado (120°C durante 30 minutos), contido no vaso de 6,5 litros de capacidade do fermentador da New Brunswick Scientific Co., modelo FS 307, sendo incubado a 30°C, com agitação mecânica de 600 r.p.m. e aeração de vol/vol/min. durante 48 horas.

Após o término da fase fermentativa, o micélio fúngico e outros materiais insolúveis foram separados por filtração, sendo o pH do filtrado ajustado para 6,0.

O líquido separado foi processado para precipitação do enzimo, pela adição de álcool etílico, como descrito anteriormente.

### Avaliação da atividade enzimica

A atividade enzimica foi determinada por um método modificado, originalmente descrito por SANDS-TEDT, KNEEN e BLISH (16), e expressa em unidade SKB. A comparação foi feita com um enzimo padrão da Miles Laboratories, Elkart, Indiana, E.U.A.

### Panificação

Com o produto  $\alpha$ -amílase foram realizados ensaios de panificação, a fim de se avaliar o efeito do enzimo em pães.

Na elaboração dos pães, utilizou-se de farinha de trigo pura, e de misturas de 80 partes de farinha de trigo com 20 partes de farinha de milho pré-gelatinizada ou farinha de raspa de mandioca. A receita utilizada pode ser vista abaixo:

Farinha .....	100%
Água .....	variável (de acôrdo com o farinógrafo)
Fermento ...	3%
Sal .....	2%
Açúcar .....	2%
Gordura .....	2%
$\alpha$ -amílase ...	variável

Para o preparo do pão, utilizou-se o método direto de fermentação, obtendo-se unidades de pão à base de 250 g de farinha.

O produto obtido foi observado quanto ao volume e aspecto externo e interno.



A  $\alpha$ -amílase foi utilizada para cada série de ensaios em proporções variáveis de 0,006%, 0,025%, 0,0375%, 0,05%, 0,0625%, 0,0725% e 0,1% correspondentes, respectivamente, a 5, 20, 30, 40, 50, 60 e 80 mg por 80 g de farinha.

Em toda a série de teste, foi feito o ensaio padrão para fins comparativos, no qual não se utilizou o enzimo.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

O enzimo sob a forma de um pó, produzido pelo método de fermentação semi-sólido, apresentou uma atividade enzimica da ordem de 12.000 unidades SKB por grama, ao passo que o enzimo obtido pelo método de fermentação submerso, uma atividade enzimica da ordem de 5.000 unidades SKB por grama. Portanto, o método de cultura semi-sólido produz alta atividade enzimica em alfa-amílase.

Como se pode observar pela Figura 1, a alfa-amílase que é um enzimo extra-celular, quando obtida pelo método de cultura submerso, sendo um enzimo extra-celular, é libertada das células após 6 horas de fermentação, com um rápido aumento depois de 12 horas. A atividade enzimica máxima foi obtida ao redor das 32 horas de fermentação.

Para panificação, tanto o produto obtido pelo método de cultura semi-sólido, como o submerso, tiveram sua atividade enzimica ajustada para 5.000 unidades SKB por grama.

Os resultados dos testes de panificação podem ser vistos nas Figuras 2, 3 e 4, que mostram os pães em corte.



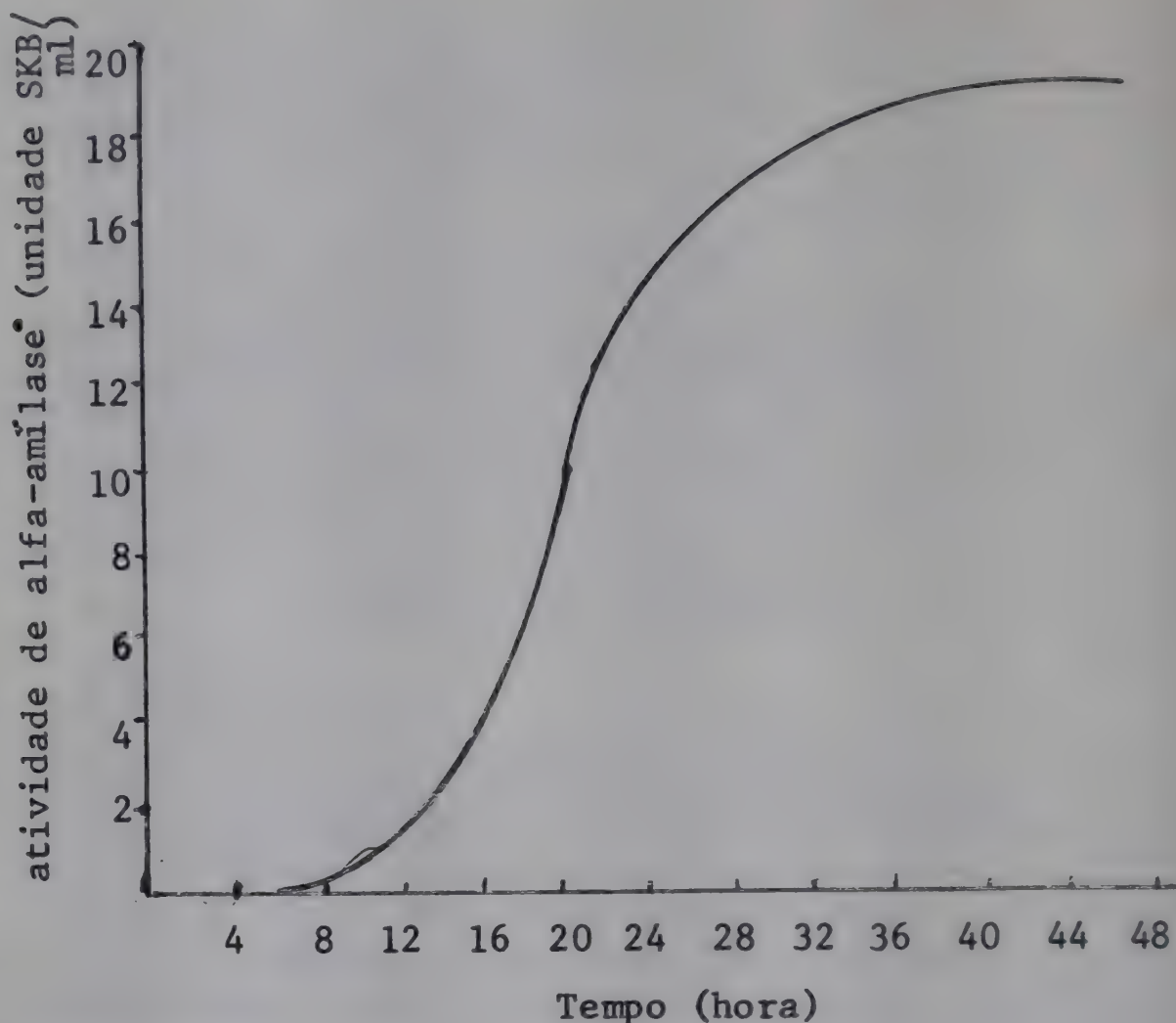


Figura 1.

Os dados de volume obtidos são apresentados no Quadro 1.

Como se sabe, a  $\alpha$ -amílase fúngica auxilia na produção de gás durante a fase de fermentação da massa. Assim, a determinação do volume do pão pode então fornecer uma indicação da eficiência da adição deste produto enzimático em doses crescentes.

Os resultados mostram que, no caso de pão de farinha de trigo, apenas houve um aumento de volume até na dose de 60 mg/80 g de  $\alpha$ -amílase; a adição de 80 mg/80 g já determina uma diminuição do volume do pão. Em relação à textura do pão, entretanto, doses

além de 50 mg/80 g, apesar de dar maior volume, originou um aumento nas granulações do miolo, o que o tornou de pior qualidade.

Quadro 1. Volume dos pães obtidos com adição de porções crescentes de  $\alpha$ -amílase.

Adição de $\alpha$ -amílase mg/80g de farinha	Farinha de trigo 100% (Fig. 2)	Farinha de trigo 80% - Far. de milho gelatinizado 20% (Fig. 3)	Far. de trigo 80% - Far. de mandioca 20% (fig. 4)
Sem adição	1220	1030	1060
5	1330	1100	1080
20	1330	1150	1030
30	1340	1200	1300
40	1380	1200	1380
50	1390	1270	1260
60	1430	-	-
80	1300	-	-

Em relação aos pães feitos com 80 partes de farinha de trigo e 20 partes de farinha de milho pré-gelatinizada, a dose máxima de adição de  $\alpha$ -amílase, que deu melhor resultado em relação ao volume e à textura, foi 50 mg/80 g.

Finalmente, os pães feitos com 80 partes de farinha de trigo e 20 partes de farinha de mandioca, mostraram uma dose ótima de adição de  $\alpha$ -amílase de 40 mg/80 g, além da qual houve diminuição no volume do pão.



Figura 2. Pães de 100% de farinha de trigo pura.



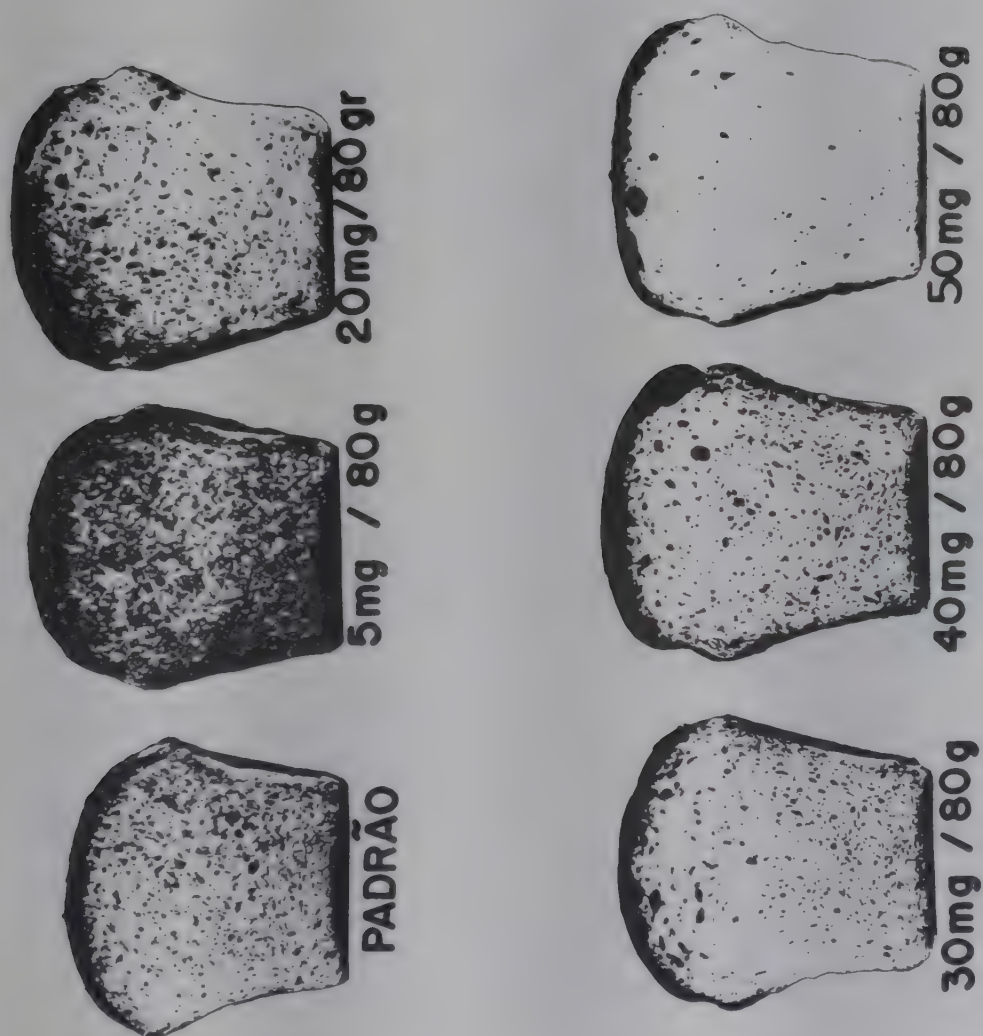
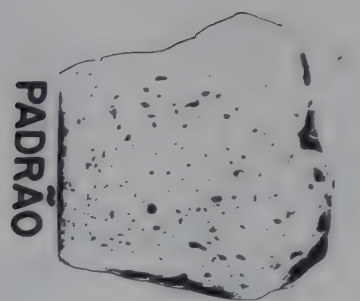
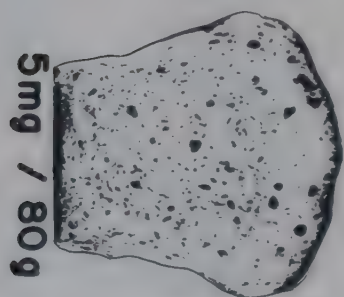


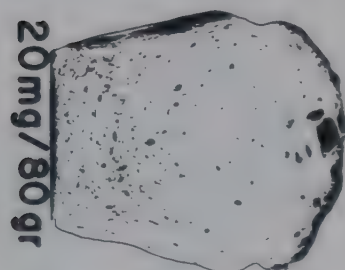
Figura 3. Pães de 80% de farinha de trigo e 20% de farinha de milho gelatinizada.



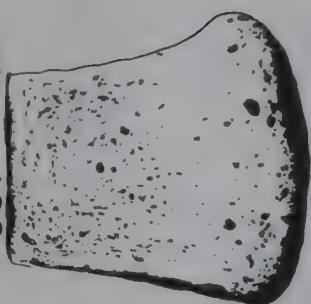
**PADRÃO**



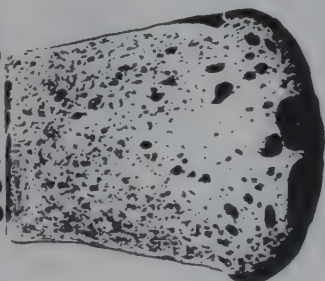
**5mg / 80g**



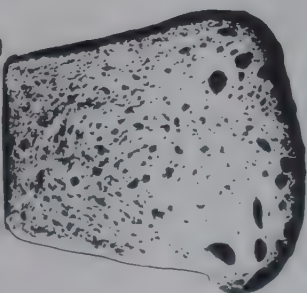
**20mg / 80gr**



**30mg / 80g**



**40mg / 80g**



**50mg / 80g**

• Figura 4. Pães de 80% de farinha de trigo e 20% de farinha de mandioca.

## CONCLUSÕES

1.  $\alpha$ -amílase fúngica usando *Aspergillus oryzae* NRRL 695 foi produzida por fermentação submersa e cultura semi-sólida.
2. Maior atividade da  $\alpha$ -amílase foi obtida quando o fungo foi cultivado em meio semi-sólido.
3. A aplicação de quantidade eficiente de  $\alpha$ -amílase para a produção de pão de trigo misturado com farinhas de milho pré-gelatinizado ou farinha de mandioca, está ao redor de 40 a 50 mg/80 g e para farinha de trigo puro 50 a 60 mg/80 g.

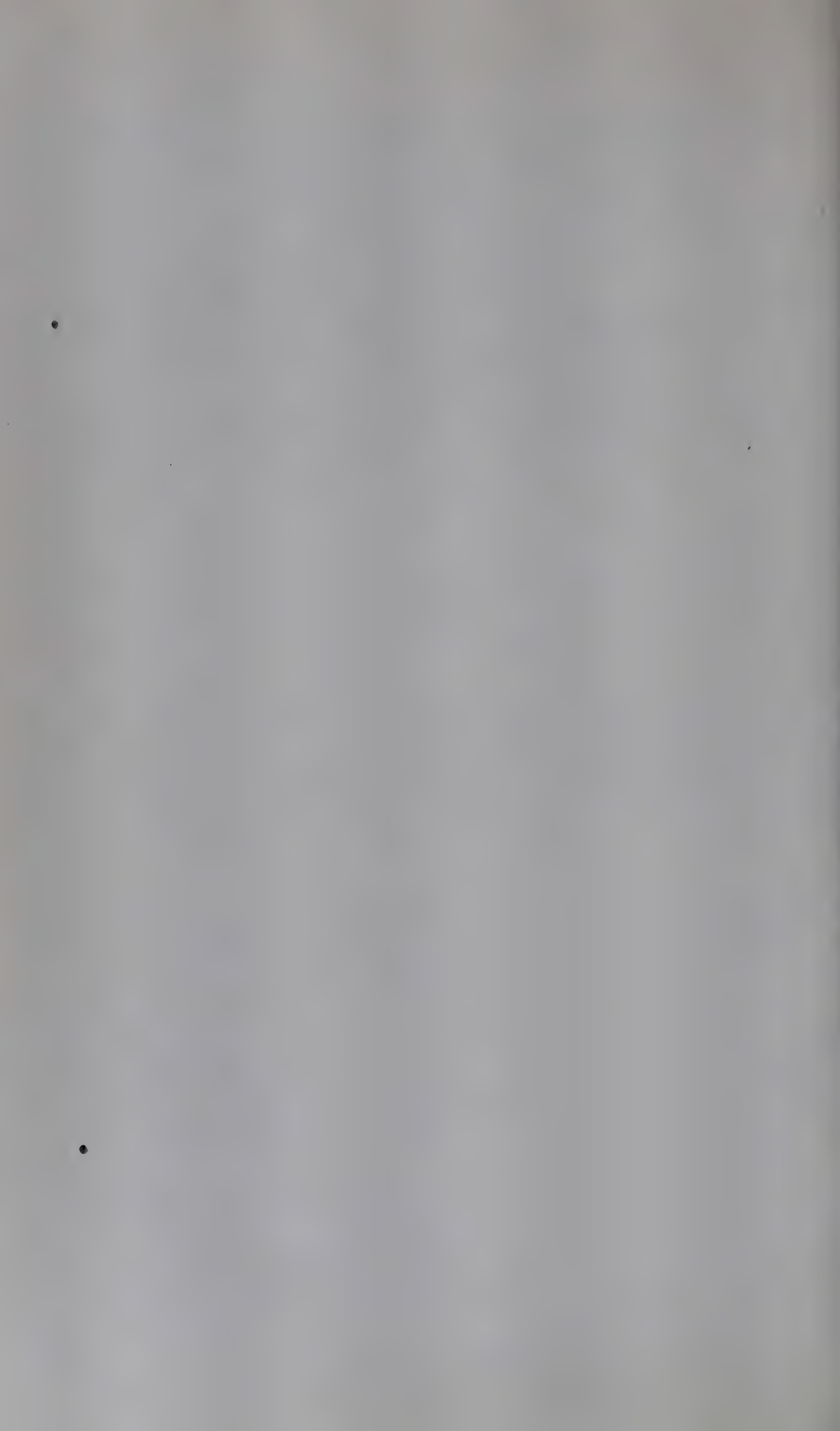
## LITERATURA

1. ADAMS, S.L., BALANKURA, B. e outros. Submerged culture of fungal amylase. Ind. Eng. Chem. 39: 1616-1617, 1947.
2. GATES, R.L. & KNEEN, E. Preparation of amylase-active concentrates from mold bran Cereal Chem. 25(1): 1-19, 1948.
3. HAO, L.C., FULMER, E.I. & UNDERKOFER, L.A. Fungal amylases as saccharifying agents in the alcoholic fermentation of Corn. Ind. Eng. Chem. 35 (7): 814-818, 1943.
4. \_\_\_\_\_, & JUMP, J.A. Microbial amylase preparations Conversion agents for alcoholic fermentation. Ind. & Eng. Chem. 37 (6): 521-525, 1943.
5. HAYNES, W.C., WICKERHAM, L.J. & HESSELTINE, C.W. Maintenance of cultures of industrially important microorganisms. Appl. Micr. 3 (6): 361-368, 1955.



6. JEFFREYS, G.A. Mold enzymes produced by continuous tray method. *Food Ind.* 20: 82-84, 219, 1948.
7. JOHNSON, J.A. & MILLER, B.S. Fungal enzymes help you make better bread. Concluding Part II. *Food Eng.*, p. 161-167, April, 1951.
8. LANEN, J.M. VAN & LE MENSE, F.H. The production of fungal amylases in submerged culture and their use in the production of industrial alcohol. *Jour. Bact.* 51: 595, 1946 (Scientific Proceed., Abst. A 19).
9. LE MENSE, E.H., CORMAN, J. e outros. Production of mold amylases in submerged culture. *Jour. Bact.* 54 (2): 149-159, 1947.
10. LOCKWOOD, A.R. Production of fungal amylase and its use in the supplementation of bread flour. In Production and application of enzyme preparations in food manufacture. S.C.I. Monograph n<sup>o</sup> 11, Soc. Chemical Ind., London, p. 15-21, 1961.
11. ROBERTS, M., LAUFFER, S. e outros. Saccharification of wheat by fungal amylases for alcohol production. *Ind. Eng. Chem.* 36: 811-812, 1944.
12. TAKAMINE, J. Enzymes of *Aspergillus oryzae* and the application of its amyloclastic enzyme to the fermentation industry. *Jour. Ind. & Eng. Chem.* 6(10): 824, 1914.
13. TSUCHIYA, H.M., CORMAN, J. & KOEPESELL, H.J. Production of mold amylases in submerged culture. II - Factors affecting the production of alpha-amylase and maltose by certain *Aspergilli*. *Cereal Chem.* 27(4): 322-330, 1950.

14. UNDERKOFER, L.A., FULMER, E.I. & SCHOENE; L.  
Saccharification of starchy grain mashes for the  
alcoholic fermentation industry Ind. Eng. Chem.  
31: 734-738, 1939.
15. \_\_\_\_\_, & SEVERSON, G.M. e outros. Commercial  
production and use of mold bran. Cereal Chemistry 24 (1): 1-22, 1947.





## PRODUÇÃO DE "TEMPEH", PRODUTO FERMENTADO DE SOJA

Mauro F. F. Leitão  
Tobias J. B. Menezes  
João S. Tango

### RESUMO

O presente trabalho relaciona-se à produção de "tempeh", um alimento fermentado de origem indonésia, utilizando, porém, uma variedade brasileira de soja, a Araçatuba.

As análises químicas da matéria-prima e do produto fermentado revelaram uma alta atividade lipolítica do fungo, sem alterações no teor de nitrogênio total. As condições do experimento foram satisfatórias, com bom desenvolvimento do fungo em 18-20 horas.

O produto foi preservado por desidratação até um teor de umidade de 9%, sendo, em seguida, embalado em sacos de plástico.

### SUMMARY

PRODUCTION OF TEMPEH, A FERMENTED SOYBEAN PRODUCT. This paper deals with the production of tempeh, an indonesian fermented food, using a brazilian soybean varietie. Chemical analysis of the raw material and of the fermented product showed a high lipolytic activity of the mold, without changes in the total nitrogen content. The conditions of the experiment were satisfactory, with food mold development in 18-20 hours.

The product was preserved by dehydration up to 9% total moisture, followed by packaging in plastic bags.

## INTRODUÇÃO

Dentre as diferentes fontes de proteínas de origem vegetal, a soja pode alcançar teores de até 45%, sendo praticamente bastante rica em todos os aminoácidos essenciais (1, 7). Entretanto, apresenta algumas características que a tornam de difícil aceitação, sobressaindo-se, dentre elas, o sabor e aroma que são desagradáveis. Por este motivo, surgiu o interesse no desenvolvimento de produtos derivados, que reunissem às suas qualidades nutritivas, melhores características organolépticas.

Um desses produtos é o "tempeh", alimento de origem indonésia, obtido da fermentação dos grãos de soja pelo fungo *Rhizopus* sp. Autret e Van Veen, citados por Hand (4), propuseram a utilização deste produto como possível fonte de proteínas de baixo custo, em programas de nutrição para crianças dos países em desenvolvimento.

Hesseltine (5) produziu o "tempeh" inoculando uma suspensão de esporos de *Rhizopus* sp. em soja descascada e incubando em placas de Petri. Stenkraus e outros (9, 10) descreveram uma planta piloto para a produção do "tempeh", mostrando que no produto fermentado havia uma intensa atividade lipolítica do fungo, com um aumento nos teores porcentuais de nitrogênio solúvel em água, etanol e ácido tricloroacético.

Smith e outros (8) verificaram que ratos alimentados com "tempeh" mostraram pequena redução no crescimento e um menor valor PE ("protein efficiency"), quando comparados com ratos alimentados com farinhas obtidas de soja descascada e cozida. A adição de metionina ao "tempeh", provocou um estímulo no crescimento e um aumento no valor PE.



Embora não tenha sido comprovado um acréscimo no valor nutritivo do "tempeh", acredita-se que há um aumento da digestibilidade do produto devido às atividades enzimáticas do fungo, resultando na formação de aminoácidos, havendo, também, um aumento nos teores de riboflavina, niacina e vitamina B<sub>12</sub>, com um decréscimo nos teores de tiamina. Além disso, há uma melhoria na textura e o desaparecimento do gosto desagradável da soja (5).

O objetivo deste trabalho foi o de verificar as condições mais favoráveis para a obtenção do "tempeh", utilizando-se de uma variedade local de soja, e procurando-se determinar algumas das transformações ocorridas na soja durante a fermentação.

## MATERIAL E MÉTODO

O trabalho foi realizado seguindo o método usado por Steinkraus e Van Buren (10), segundo o fluxograma da Figura 1.

A suspensão de esporos foi obtida de *Rhizopus* sp, NRRL 2.710, tentativamente classificado como *Rhizopus oligosporus*, desenvolvendo-se no seguinte meio: extrato de levedura = 3 g; extrato de malte = 3 g; peptona = 5 g; glicose = 10 g; ágar = 15 g; água destilada = 1,000 ml.

O exame microbiológico da água de maceração foi feito pela contagem total em placas de glicose triptoná extrato de levedura ágar ("Total plate count agar"), incubando-se a 30°C durante 48 horas. As colônias foram isoladas e identificadas de acordo com o Bergey's Manual (2).

A determinação dos teores de óleo e ácidos graxos livres foram efetuados segundo especificações da A.O.C.S. (6). O método macro-Kjeldahl foi usado



Matéria-prima

(grãos de soja da var. Araçatuba)



Seleção



Lavagem



Maceração por 24 horas

(Relação soja: 1:3, com acidificação inicial  
até pH = 4,0, com ácido lático a 85%)



Tratamento térmico

(100° C durante 40 minutos)



Inoculação



Incubação a 37°C durante 18 - 24 horas

(em bandejas metálicas, com fundo de tela perfu-  
rada, dimensões 36 x 36 x 2 cm)



Corte em cubos e desidratação

(90°C durante 2 horas, em estufa com circulação  
forçada de ar)



Embalagem

(Sacos plásticos)

Figura 1. Fluxograma do preparo do "tempeh".

na determinação do N total e o teor de umidade foi determinado pela secagem em estufa a vácuo a 80°C, até peso constante.

## RESULTADOS

Observou-se um bom desenvolvimento do fungo no intervalo de 18-20 horas, com formação de um micélio compacto, branco, sendo a fermentação interrompida antes de se iniciar a esporulação.

O rendimento na base do peso seco foi de 67,1%.

O exame microbiológico da água de maceração mostrou uma população média, após 24 horas, de  $5.10^6$  microrg./ml, com predominância de bactérias, sendo identificados representantes dos gêneros *Streptococcus* e *Bacillus*.

Os resultados dos exames químicos constam do Quadro 1.

Quadro 1. Análises químicas da soja e do "tempeh".

Determinação (%)	Soja	"Tempeh"
Umidade	7,25	6,38
Nitrogênio total	7,25	7,76
Matéria graxa	22,37	25,04
Ácidos graxos livres	0,35	22,49

## CONCLUSÕES E DISCUSSÃO

Observou-se que após a acidificação inicial da água de maceração até pH 4,0, houve uma redução gradativa da acidez, situando-se os valores de pH, após 24 horas, ao redor de 5,4. Nestas condições, microrganismos indesejáveis poderiam se desenvolver, sendo aconselhável, portanto, um controle periódico da acidez.

Os resultados das análises químicas demonstraram que não houve alteração sensível no teor de N total; conseqüentemente, não houve perdas, principalmente na forma de  $\text{NH}_3$ . Por outro lado, foi evidenciada a intensa atividade lipolítica do fungo, com aumento no teor de ácidos graxos livres de 0,35 para 22,49%. Tais observações concordam com os resultados obtidos por Steinkraus e outros (9).

A desidratação do "tempeh", até um teor de umidade ao redor de 9%, seguida de embalagem em sacos plásticos, mostrou-se eficiente no que se refere à sua conservação, sem apresentar alterações microbiológicas.

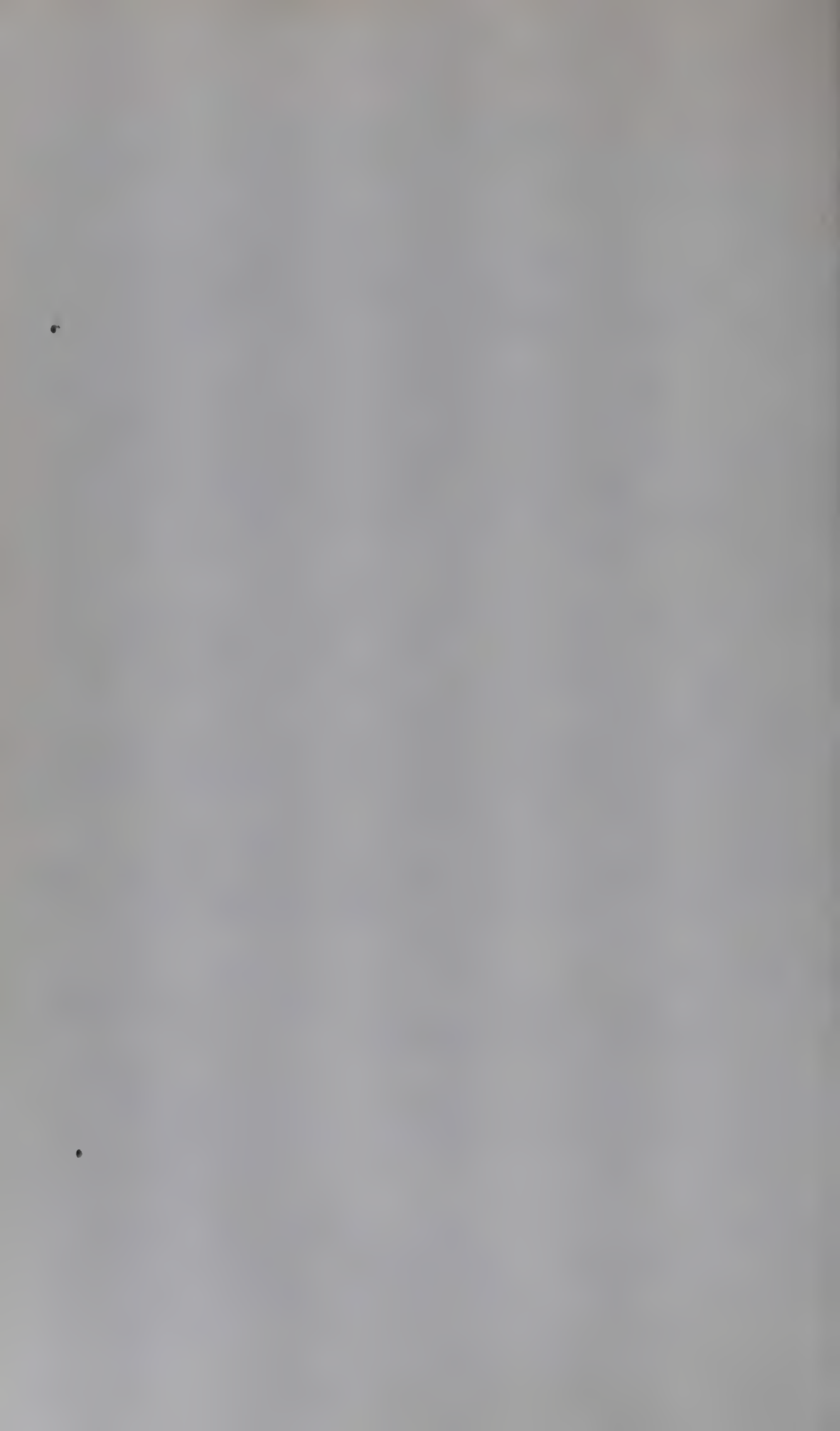
O rendimento do processo mostrou-se relativamente baixo (67,19%), devido principalmente à operação manual de descascamento da soja, que ocasionou sensíveis perdas de material.

## LITERATURA

1. AMARAL, A. Soja e Nutrição. Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo. Depart. da Produção Vegetal. Serviço de Expansão da Soja, 1958.
2. BREED, R.S., MURRAY, E.G.D. & SMITH, N.R. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams and Wilkins Company, 7th ed., .. p., 1957.



3. BURNETT, R.S. Soybeans and Soybeans Products. Interscience Publishers, Inc., New York, U.S.A., 1951.
4. HAND, P.B. Development of Low Cost Supplemental Foods From Soybeans. New York Agricultural Experimental Station, 1-19 p., 1965.
5. HESSELTINE, C.W. A Millenium of Fungi, Food and Fermentation. *Mycologia* 57(2): 149-157, 1965.
6. NEHLENBACHER, V.C. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists Society, 2nd ed., American Oil Chemists Society, Chicago, Illinois. U.S.A., 1946.
7. Proceedings of Conference on Soybean Products for Proteins in Human Foods. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service, 242 p., 1961.
8. SMITH, A.K., RACKIS, J.J. & outros. Tempeh: Nutritive Value in Relation to Processing. *Cereal Chemistry*, 41(3): 178-181, 1964.
9. STEINKRAUS, K.H., HWA, Y.B. & outros. Studies on Tempeh - Indonesian ferment soybean food. *Food Research*, 25: 777-788, 1960.
10. VAN BUREN, J.P. & outros. A Pilot-Plant Process for the Production of Dehydrated Tempeh. *Food Technology* 19: 63-68, 1965.



## PRODUÇÃO DE AMILOGLICOSÍDASE FÚNGICA PELA FERMENTAÇÃO SUBMERSA

Yong K. Park  
Renato S. Papini

### RESUMO

*Cinco linhagens de Aspergillus foram examinadas para produção de amiloglicosídase por cultura em agitação, verificando-se que o Aspergillus awamori produzia alta atividade de amiloglicosídase, quando comparado às demais linhagens.*

*A produção de amiloglicosídase pela fermentação com Aspergillus awamori foi realizada por meio de um fermentador de 6,5 litros, aeração e agitação.*

### SUMMARY

*PRODUCTION OF FUNGAL AMYLOGLUCOSIDASE BY SUBMERGED FERMENTATION. Five strains of Aspergilli were examined for production of Amyloglucosidase by Shaking Culture and found that Aspergillus awamori produced high activity of Amyloglucosidase as compared to other strains.*

*The production of Amyloglucosidase with fermentation of Aspergillus awamori was performed by using 6.5 litros fermentar, aeration, agitation.*

### INTRODUÇÃO

*A amiloglicosídase é um enzimo que rompe a ligação glicosídica  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6; portanto, transforma amidos em monossacárides, como a glicose. Phillips e outros (1, 2) pesquisaram um enzimo de *Rhizopus dele-mar*, que hidrolisa amidos em glicose, o qual denomina-*



ram de glicoamílase. Kepp e outros (3) também pesquisaram esse enzimo em fungos, denominando-o de  $\alpha$ -1,4 amiloglicosídase. Pazur e outros (4, 5) procederam a purificação da amiloglicosídase do enzimo bruto isolado da fermentação de *Aspergillus niger*, e determinaram as suas características físico-químicas.

• Anteriormente, vários pesquisadores verificaram que geralmente o gênero *Aspergillus* produz o enzimo amiloglicosídase. Recentemente, Smiley e outros (6, 7) pesquisaram a produção de amiloglicosídase de *Aspergillus niger* por fermentação submersa, assim como a produção de glicose de amido com este enzimo.

O objetivo deste trabalho foi o da produção do enzimo amiloglicosídase pelo fungo *Aspergillus awamori*, que é da família do *Aspergillus niger*. Verificou-se, também, que cinco linhagens de *Aspergillus*, das quais três de *A. niger*, uma de *A. oryzae* e uma de *A. awamori*, produzem esse enzimo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Tôdas as cinco linhagens de fungos do gênero *Aspergillus* foram conservadas em tubos de ensaio contendo ágar Czapek (3 g de  $\text{NaNO}_3$ , 1 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,5g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,5 g de  $\text{KCl}$ , 1 ml de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (1%), 15,0 g de ágar, 30 g de sacarose e 1.000 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ ). As linhagens de fungo para inoculação foram incubadas em tubos de ensaio contendo ágar levedura-malte (3,0 g de extrato de levedura, 3,0 g de extrato de malte, 5,0 g de peptona, 10 g de glicose, 20 g de ágar e 1.000 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ ).

• Cultura em agitação. Cada linhagem foi incubada durante 48 horas em tubo de ensaio contendo ágar levedura-malte, e o material inoculado em frasco Erlenmeyer de 250 ml, contendo 50 ml de meio de cultura composto de 3,79% de amido solúvel, 1,3% de peptona,

1% de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,2% de  $\text{NaNO}_3$  e 1% de extrato de levedura. Os frascos Erlenmeyer foram incubados à temperatura de  $35^\circ\text{C}$ , sob agitação rotativa de 250 r.p.m., durante 100 horas. Após incubação, o meio de cultura foi filtrado para separação do micélio e no filtrado foi determinada a atividade da amiloglicosídase.

Produção de amiloglicosídase. *Aspergillus awamori* NRRL 3112 foi incubado durante 48 horas, em tubo de ensaio contendo ágar levedura-malte, e inoculado em frascos Erlenmeyer de 500 ml contendo 100 ml de meio de cultura constituído de: 5% de fubá e 0,25% de extrato de levedura, com pH ajustado a 5,5. Após a inoculação, foi incubado durante 35 horas, à temperatura de  $35^\circ\text{C}$ , sob agitação rotativa de 250 r.p.m. Após incubação, o meio de cultura contendo bastante micélio foi inoculado em fermentador de 6,5 litros, contendo 6 litros de meio de cultura constituído de 20% de fubá.

Preparação do meio de cultura com 20% de fubá. Oito litros de água são misturados com 2 quilos de fubá e 1,5 g de alfa-amílase bacteriana, aquecendo-se até  $80^\circ\text{C}$ , durante 30 minutos e sob agitação. Assim, a solução de fubá se liquefaz pela alfa-amílase. Após diminuição da temperatura, ajusta-se o pH do meio de cultura para 5,5.

Determinação da atividade amiloglicosídase. Cinquenta ml de substrato para enzimo contendo 4% de amido solúvel, de pH 4,0, é ajustado com tampão acetato mais 1 ml de filtrado de líquido fermentado, o qual é diluído de 1:10 em água destilada. Após misturar a solução enzimica ao substrato, este é incubado em banho-maria, à temperatura de  $60^\circ\text{C}$  e durante uma hora. Após incubação, a solução de substrato-enzimo é neutralizada, determinando-se em 10 ml desta solução as substâncias redutoras e calculando-se como glicose. Assim, a potência de enzimo que transforma o amido em 1 g de glicose, durante uma hora e à temperatura de  $60^\circ\text{C}$ , é designada como uma unidade de amiloglicosídase.



Determinação da atividade alfa-amilase. Utilizou-se, para determinação da atividade alfa-amilase, a técnica da citação 8.

Obtenção do enzimo. Após fermentação, todo o líquido fermentado foi filtrado para separação do micélio e material insolúvel. Ao filtrado adicionou-se álcool etílico de 96% até 70% em volume, à temperatura de cerca de 4°C, deixando-se em repouso por uma noite. Após a precipitação do enzimo, decantou-se o líquido sobrenadante. O material precipitado, que é viscoso, foi centrifugado para maior separação de líquido. Após a centrifugação, todo o enzimo foi liofilizado e moído.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 1 são apresentados os resultados obtidos para as cinco linhagens estudadas de *Aspergillus*, incubadas em frasco Erlenmeyer de 250 ml, com meio de cultura constituído de amido, peptona, extrato de levedura,  $\text{NaNO}_3$  e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Quadro 1. Atividade amiloglicosídase das diversas linhagens de *Aspergillus*.

Linhasgens	Atividade amiloglicosídase (unidades de amiloglicosídase por ml)
<i>Aspergillus niger</i> NRRL 337	0,24
<i>Aspergillus awamori</i> NRRL 3112	1,3
<i>Aspergillus niger</i> NRRL 3122	1,2
<i>Aspergillus oryzae</i> NRRL 695	0,34
<i>Aspergillus niger</i> NRRL 330	0,24



Como se observa pelos dados do Quadro 1, o *Aspergillus awamori* NRRL 3112, produziu mais enzimo amiloglicosídase, do que as demais linhagens estudadas.

Utilizou-se para produção de amiloglicosídase da linhagem *Aspergillus awamori* NRRL 3112, um fermentador de 6,5 litros, contendo 6 litros de meio de cultura, constituído de 20% de fubá, de pH 5,5, fermentado sob agitação a 600 r.p.m., à temperatura de 35°C e aeração vol/vol/minutos durante 5 dias.

Os resultados da fermentação são mostrados na Figura 1. Verifica-se, por ela, que após 120 horas de fermentação de *Aspergillus awamori*, tanto a amiloglicosídase como a alfa-amilase apresentaram o número máximo de atividade, porém a atividade da primeira mostrou-se ser mais elevada do que aquela desta última.

## CONCLUSÃO

Foram investigadas cinco linhagens do gênero *Aspergillus*, segundo a sua produção de amiloglicosídase, tendo-se verificado que o *Aspergillus awamori* NRRL 3112, foi o que apresentou melhores resultados. Conclui-se que esta linhagem é significativa para a industrialização do enzimo amiloglicosídase.

## LITERATURA

1. PHILLIPS, L.L. & CALDWELL, M.L. A study of the purification and properties of a glucose-forming amylase from *Rhizopus delemar*, Gluc-Amylase. J. Am. Chem. Soc., 73: 3554, 1951.
2. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. A study of the action of Gluc-Amylase, a glucose-producing amylase, formed by the mold, *Rhizopus delemar*. J. Am. Chem. Soc., 73: 3563, 1951.

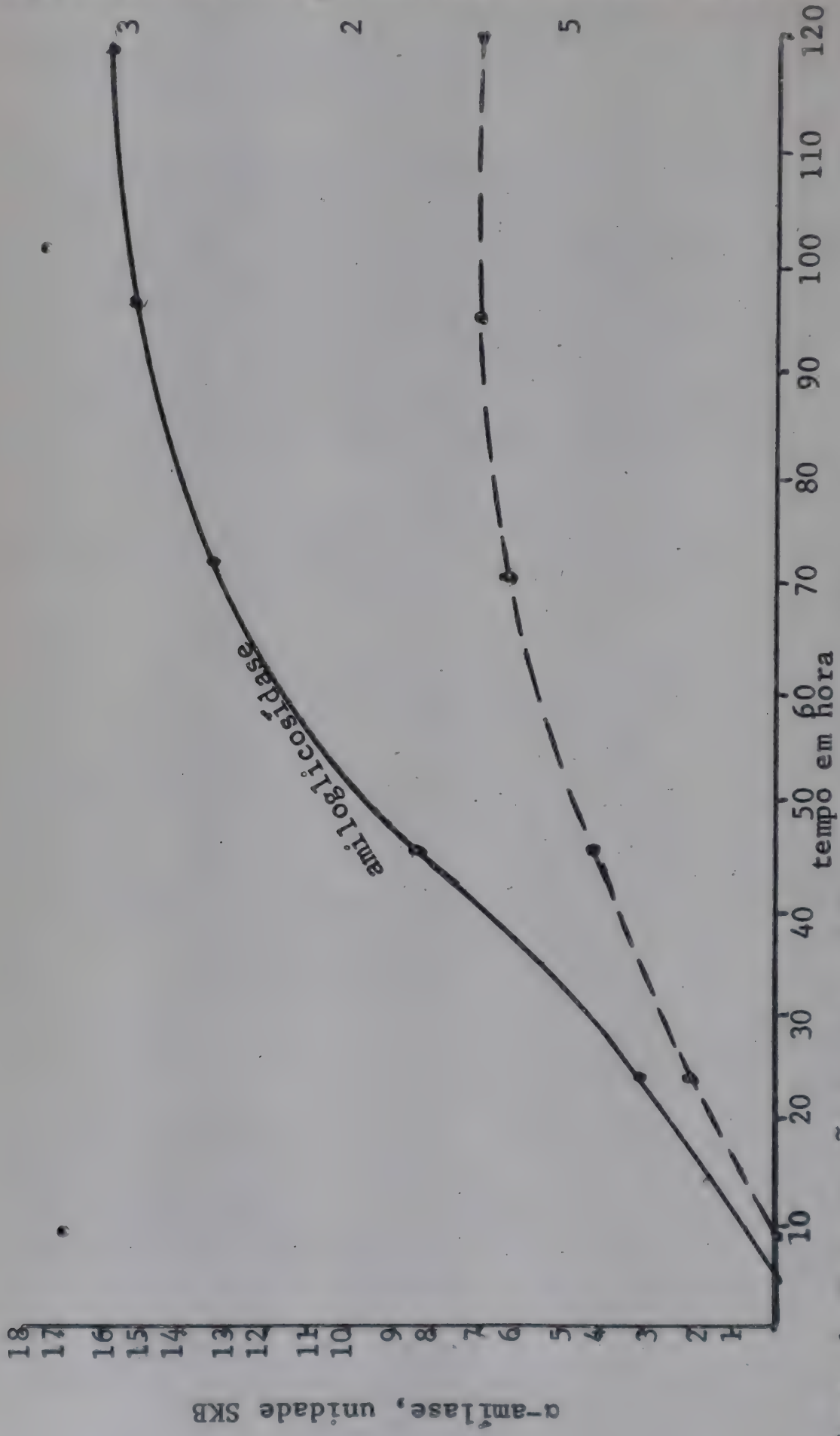


Figura 1. Fermentação de *Aspergillus awamori* NRRL 3112.

3. KERR, R.W., CLEVELAND, F.C. & KATZBECK, W.J. The action of amiloglucosidase on amylase and amylopectin. J. Am. Chem. Soc. 73: 3916, 1951.
4. PAZUR, J.H. & ANDO, T. The hydrolysis of glucosyl oligosaccharides with  $\alpha$ -1,4 and  $\alpha$ -1,6 bonds by fungal amyloglucosidase. J. Biological Chemistry, 235: 297, 1960.
5. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. The action of an amyloglucosidase of *Aspergillus niger* on starch and malto-oligosaccharides. J. Biol. Chem. 234: 1966, 1959.
6. SMILEY, K.L., CADMUS, M.C., HENSLEY, P.E. & LAGODA, A.A. High-potency amyloglucosidase producing mold of the *Aspergillus niger* group. Appl. Microbiology, 12: 455, 1964.
7. CADMUS, M.C., JAIKO, L.G. & outros. Enzymatic production of glucose syrup from grains and its use in fermentation. Cereal Chemistry. 43: 658, 1966.
8. STANDSTEDT, R.M., KNEEN, E. & BLISH, M.J. A standardized "wohlgemuth" procedure for alfa-amylase activity. Cereal Chemistry. 16: 712, 1939.





OS EFEITOS DO ARMAZENAMENTO PRÉ E PÓS-ENLATAMENTO E  
DO PROCESSAMENTO SÔBRE A TEXTURA E ESTABILIDADE  
DE DAMASCOS (\*) (\*\*)

Flávio Verlengia ,

RESUMO

1. Foram investigados os efeitos do armazenamento pré e pós-enlatamento e do processamento sôbre a textura e estabilidade de damascos.

2. Durante o período de nove semanas do armazenamento a frio de pré-enlatamento, os sólidos solúveis e a acidez total nas frutas diminuíram gradualmente. As frutas armazenadas a 0°C, durante 6 a 9 semanas, desenvolveram um sabor estranho distinto no produto enlatado.

3. Verificou-se que o Lee Kramer Shear-Press era útil para avaliação da textura de damascos enlatados. Quando os produtos enlatados eram armazenados a 21,1°C, tornavam-se um tanto moles na textura. Maior amolecimento ocorria nas amostras que eram armazenadas durante 6 a 9 semanas a 0°C, antes do enlatamento. O amolecimento incomum de damascos enlatados, que tem afligido a indústria, não pode ser atribuído, entretanto, ao armazenamento a frio antes do enlatamento.

4. Imediatamente após o enlatamento, as amostras não armazenadas eram mais ricas em pectina de xa-

---

(\*) Tradução de J.C. Medina e Daura Vianna Oioli.

(\*\*) Tese para obtenção de título de "Master of Science" em Ciência de Alimentos, na Universidade da Califórnia, 1964.

rope, seguindo-se, em ordem decrescente, pelas amostras que tinham sido armazenadas durante períodos progressivamente mais longos.

5. As amostras que tinham sido armazenadas durante um período maior antes do enlatamento, mostraram aumentos mais rápidos na pectina de xarope, porém, eram muito mais baixas em viscosidade. Isso sugere a presença de enzimas provenientes de fungos ou da própria fruta, que provocam a hidrólise da pectina em unidades menores de peso molecular médio mais baixo.

6. Havia uma íntima relação entre o aumento da pectina solúvel em água no xarope e o amolecimento do produto enlatado, durante o armazenamento de pós-enlatamento a 21,10C. O armazenamento a frio, antes do enlatamento, e o armazenamento a 21,10C após o enlatamento, contribuíram para a lenta conversão da protopectina em pectina solúvel, que resultou em amolecimento gradual na textura do produto enlatado.

7. O grau de esterificação e acetilação da pectina de damasco diminuiu durante o período de armazenamento de pós-colheita. As quantidades da diminuição eram um tanto pequenas e não podem ser consideradas para explicar o amolecimento de certos lotes de damascos enlatados.

8. O tempo de cozimento tem influência direta sobre a textura de damascos enlatados. As amostras cozidas durante 7 minutos, eram consistentemente mais firmes na textura do que aquelas cozidas durante 30 minutos.

9. A temperatura de armazenamento parece ser importante no amolecimento de damascos enlatados. As amostras armazenadas a 300C amoleceram em velocidade muito mais rápida do que aquelas a 31,10C.



10. O tipo de enlatamento era importante em relação à textura do produto enlatado. Os damascos enlatados inteiros eram ligeiramente mais firmes na textura do que aqueles enlatados em metades. Damascos enlatados dando leituras do Lee Kramer Shear-Press de 0,5 a 1,0 polegada quadrada ou menos, eram de textura muito pobre e macia.

11. Os damascos enlatados inteiros, eram inferiores em pectina solúvel, em relação àqueles enlatados em metades. Isso pode ser explicado pela difusão mais rápida ao xarope da pectina solúvel em água pelas metades. No caso de frutas inteiras, a pele atua como barreira, retardando a velocidade de difusão ao xarope da pectina solúvel em água. Isso explica o fato de os damascos enlatados inteiros, reterem uma textura mais firme após enlatamento do que as metades.

12. O conteúdo de protopectina era mais alto nas amostras que recebiam o cozimento mais rápido. Durante o armazenamento, uma conversão gradual da protopectina em pectina solúvel em água, foi observada em todas as amostras enlatadas.

Armazenagem a 30°C causou uma diminuição mais rápida na protopectina e no amolecimento da fruta, do que o armazenamento a 21,1°C.

13. A cromatografia a gás dos gases do espaço livre nos damascos enlatados, indicou que, sob as mesmas condições de armazenamento, os damascos inteiros e com casca, produziam mais hidrogênio do que as metades enlatadas, independentemente do tempo de cozimento. A adição de caroços às metades de damasco durante o enlatamento, resultou na maior formação de hidrogênio do que no caso das metades apenas.

14. O armazenamento a 30°C, causou a formação mais rápida de hidrogênio no espaço livre, do que a

21,1°C. Parece que a temperatura de armazenamento era mais importante do que o tipo de enlatamento, em relação à formação de hidrogênio no produto enlatado.

15. A dissolução do revestimento de estanho se processou gradualmente, quando os damascos enlatados foram armazenados a 21,1°C. A essa temperatura, a perda de estanho era apenas de 16,3 a 24,0% dos valores originais, após o armazenamento durante 12 meses. Quando os produtos eram armazenados a 30°C, a velocidade de destanhamento era muito mais rápida. A perda de estanho, após 12 meses de armazenamento, era de 31,9 a 51,9%, conforme o tipo de embalagem e das condições de processamento. Nenhuma das latas mostrou estufamento, mesmo quando a metade do revestimento de estanho era dissolvido no produto.

16. O enlatamento de metades de damascos com caroços não influenciou na corrosão do revestimento de estanho, ainda que causasse maior formação de hidrogênio. Não parece provável que o estufamento ocasional de hidrogênio nos damascos enlatados inteiros, possa ser atribuído à reação química dos compostos flavonóides no caroço com o revestimento de estanho.

17. O escurecimento de damascos subprocessados, quando expostos ao ar, era causado pela polifenólase residual e a atividade peroxidase no produto enlatado. No damasco enlatado inteiro, em latas nº 2 1/2, processado a 98,9°C durante 7 minutos, 4,58% da polifenólase e 9,55% da peroxidase permaneceram no produto, respectivamente.

## SUMMARY

THE EFFECT OF THE PRE AND POST-CANNING STORAGE AND PROCESSING PROCEDURE ON TEXTURE AND STABILITY OF APRICOTS.

1. The effects of pre and post-canning storage and processing procedure on texture and stability of apricots have been investigated.



2. During the nine-week pre-canning cold storage period, the soluble solids and total acidity in the fruit decreased gradually. Fruits stored at 32°F for 6 to 9 weeks developed distinct of flavor in the canned product.

3. The Lee Kramer Shear-Press was found to be useful for evaluating texture of canned apricots. When the canned products were stored at 70°F, they softened to some extent in texture. More softening occurred in samples which were stored for 6 to 9 weeks at 32°F before canning. The unusual softening of canned apricots that has been plaguing the industry, however, cannot be attributed to cold storage before canning.

4. Immediately after canning, the samples that had not been stored were highest in syrup pectin, followed in decreasing order by samples which had been stored for progressively longer times.

5. Samples which had been stored for a longer period before canning showed more rapid increase in syrup pectin, but were much lower in viscosity. This suggests the presence of enzymes due to mold or in the fruit themselves which cause hydrolysis of pectin to smaller units of a lower average molecular weight.

6. There was a close relationship between increase in water-soluble pectin in the syrup and softening of the canned product during post-canning storage at 70°F. Cold storage before canning and storage at 70°F after canning contributes to slow conversion of protopectin into soluble pectin, which results in a gradual softening in the texture of the canned product.

7. The degree of sterification and acetylation in the apricot pectin decreased during the post-harvest storage period. The amounts of decrease were rather small and cannot be used to explain the softening of certain lots of canned apricots.



8. Cooking time has a direct bearing on the texture of canned apricots. Samples cooked for 7 minutes were consistently firmer in texture than those cooked for 30 minutes.

9. Storage temperature appears to be important to the softening of canned apricots. Samples stored at 86°F softened at much faster rates than those at 70°F.

10. Type of pack was important with regard to the texture of the canned product. Canned whole apricots were slightly firmer in texture than those canned as halves. Canned apricots yielding Lee Kramer Shear-Press readings of 0.5 to 1.0 sq. inches or lower were very poor and soft in texture.

11. Canned whole apricots were lower in soluble pectin than those canned as halves. This may be explained by the more rapid diffusion of the water-soluble pectin into the syrup from the halves. In the case of whole fruits, the skin acts as a barrier which slows down the rate of diffusion of water-soluble pectin into the syrup. This explains the fact that canned whole apricots retain a firmer texture after canning than the halves.

12. Protopectin content was highest in samples receiving the shortest cooking. During storage a gradual conversion of protopectin to water-soluble pectin was noted in all canned samples.

Storage at 86°F caused a more rapid decrease in protopectin and softening of the fruit than storage at 70°F.

13. Gas chromatography of the head space gases in the canned apricots indicated that, under the same storage conditions, whole unpeeled apricots produced more hydrogen gas than did the canned halves, regardless of the cooking time. Addition of pits to the apricot halves during canning resulted in more hydrogen formation than in the case of halves alone.

14. Storage at 86°F caused more rapid formation of hydrogen gas in the head space than at 70°F. It seems that storage temperature was more important than the type of pack in regard to hydrogen gas formation in the canned product.

15. Dissolution of the tin coating proceeded gradually when the canned apricots were stored at 70°F. At this temperature, the tin loss was only 16.3 to 24.0% of the original values after storage for 12 months. When the products were stored at 86°F the rate of detinning was much faster. The tin loss after 12 months of storage was 31.9 to 51.0%, depending on the type of pack and processing conditions. None of the cans showed swell even though half of the tin coating was dissolved in the product.

16. Canning of the apricot halves with pits did not influence the corrosion of the tin coating even though they caused more hydrogen gas formation. It does not seem likely that the occasional hydrogen swell in canned whole apricots can be attributed to the chemical reaction of the flavonoid compounds in the pit with the tin lining.

17. Darkening of under-processed apricots when exposed to air was caused by residual polyphenolase and peroxidase activity in the canned product. In canned whole apricots processed at 210°F for 7 minutes NO 2% cans, 4.58% of the polyphenolase and 9.55% of the peroxidase remained in the product, respectively.



## INTRODUÇÃO

O damasco (*Prunus armeniaca* L) é extensivamente cultivado na Califórnia, sendo ali considerado como uma das importantes culturas de especialidade. As duas variedades importantes da Califórnia são: a *Royal* e *Tilton* (7). A primeira se assemelha muito nas características do fruto à var. *Blenheim*, podendo-se considerá-las como uma única variedade, para todos os fins práticos.

A área média de produção dos E.U.A., no período de 1955/59, era de 22 mil hectares (1), das quais mais de 90% se localizavam na Califórnia. Durante o referido período, as vendas totais consistiram de 26% de frutas secas, 66% enlatadas e 6,1% em estado fresco. Damascos congelados correspondem a 1,5% da produção da Califórnia (7).

Em 1961, a embalagem total de damascos enlatados dos E.U.A. atingiu a 5.798.000 de caixas-padrões, das quais 98% eram originadas e processadas na Califórnia. Dessa maneira, o enlatamento é o escoamento mais importante para os damascos.

Nestes últimos anos, a indústria de enlatamento vem enfrentando o problema de textura mole nos damascos enlatados. A fruta enlatada amolece na textura e, algumas vezes, desintegra-se completamente logo após o enlatamento ou durante o armazenamento. A causa dessa degradação não é conhecida, embora se especulasse estar relacionada com o armazenamento a frio no pós-colheita, na aplicação de fertilizantes e nos métodos de processamento. Em damascos enlatados inteiros, verifica-se, ocasionalmente, estufamento de hi-



drogênio logo no início do período de armazenamento, quando comparado a damascos enlatados em metades. A causa desse fenômeno não é clara.

No presente trabalho, foram investigados os efeitos do armazenamento a frio, no pós-colheita, e do processamento a quente, sobre a textura e as propriedades químicas de damascos enlatados. Foi dada ênfase à relação entre as mudanças no conteúdo de pectina e a textura da fruta enlatada. A estabilidade do produto enlatado em relação aos gases do espaço livre e à corrosividade do revestimento de estanho, também foi investigada.

## REVISÃO DA LITERATURA

### A. Textura do produto fresco e enlatado

A textura é uma característica importante de qualidade dos alimentos. O Kramer Shear-Press é um importante instrumento para medir a textura de alimentos frescos e processados. Tem sido utilizado para determinar a fibrosidade em aspargo (2) e vagens, a firmeza da polpa e casca da banana, para estabelecer as qualidades e tipos de feijões para processamento, datas de colheita para feijões-lima Fordhook (25), grau de branqueamento em vagens (36), grau de maciez da carne de aves (38, 35), qualidade de carne de porco (43), qualidade de milho verde e enlatado (41) e a textura de muitos outros produtos alimentícios. Nenhum trabalho foi feito sobre o emprego do Shear-Press para determinar a textura de damascos ao natural e enlatado.

### B. Substâncias pecticas

De acordo com Kertesz (13), uma das possíveis funções das substâncias pecticas nas plantas é dar firmeza aos tecidos, provavelmente pela cimentação das fibras individuais de celulose. Postlmayr e outros (28)

relataram que a firmeza em pêssegos de caroço aderente está relacionada com a retenção da protopectina. Nos pêssegos salta-caroço, a protopectina rapidamente se converte em pectina solúvel em água durante a maturação e causa o amolecimento na textura.

Relatos sobre substâncias pecticas em damascos, têm sido feitos por Kertesz (13), Strachan (40), Peynaud (26) e McCready & McComb (22), porém ninguém estudou as mudanças no conteúdo de pectina durante a maturação e seguindo-se ao enlatamento. Hoos e outros (12) mostraram que o amolecimento do damasco durante a maturação era devido, em grande parte, à conversão da protopectina em pectina solúvel em água, e que a qualidade dos damascos enlatados era relacionada à maturidade da fruta fresca no momento do enlatamento. Também foi relatado que o conteúdo da pectina solúvel em água, nos damascos enlatados, aumentava quando o teste de pressão da fruta fresca diminuía.

### C. Polifenólase e peroxídase

A polifenólase e peroxídase são enzimas presentes em muitas frutas e vegetais. A concentração de peroxídase em frutos e vegetais é relativamente baixa, enquanto que a de polifenólase é alta. A peroxídase é um enzima termorresistente, ao contrário da polifenólase.

Um dos problemas relativo à inativação da peroxídase pelo calor é a regeneração da atividade após a destruição, conforme relatada e discutida por Schwimmer (34), Kaplan (31) e outros. Nebesky e outros (23) estudaram a atividade de peroxídase em alimentos ácidos processados, verificando que o aumento na concentração de peroxídase resultava em aumento na inativação térmica do enzima. Esselen & Anderson (6), estudaram a inativação da peroxídase pelo calor em muitos vegetais na faixa de 101,7° a 148,9°C, verificando que a peroxídase tem valores  $z$  muito mais altos do que a -7,8°C, que é a temperatura aceita pela maioria dos esporos de bactérias resistentes. A peroxi-



dose de milho doce (45), na faixa de temperatura de 98,9 a 154,4°C, mostrou altos valores z, variando de 14,4 a 37,8°C.

O desenvolvimento de sabores estranhos em ervilhas enlatadas (10) e em picles frescos pasteurizados (18, 23, 24) está, até certo ponto, associado à presença de peroxidase ativa em tais produtos, após o processamento térmico. Julgou-se ser isso devido à falta de inativação ou de regeneração do enzimo.

A oxídase de damascos tem sido estudada por muitos investigadores. Samish e Cruess (33) acharam um sistema completo de enzimo-substrato capaz de produzir cor parda. A oxídase de damasco era completamente inativada pelo aquecimento a 71°C, durante 1 hora, ou a 60°C, durante 6 horas. El Tabey e Cruess (5) relataram que a peroxidase do damasco era completamente inativada a 100°C, durante 5 minutos, e quase completamente, a 90°C. A polifenólase era quase completamente inativada a 85°C, durante 5 minutos e, completamente, a 90°C. No purê de damasco Royal (4), a polifenólase era inativada a 92°C durante 9 segundos, ou a 83°C, durante 1 minuto. Ponting e outros (27) acharam que a polifenólase de damascos era inativada a 90°C, durante 60 segundos. Powers e outros (29) estabeleceram que os tratamentos mínimos requeridos para inativar os enzimos responsáveis pelo empardecimento das metades de damascos eram de 100°C, durante 4 minutos, ou 87,8°C, durante 7 minutos. Yankov (47), ao determinar a atividade polifenólase no aparelho de Wasburg em 7 variedades de cerejas, 5 de ameixas, 4 de maçãs, 2 de pêssegos, 1 de pêra e 1 de damasco, achou a atividade total ser mais alta no damasco e mais baixo nas maçãs.

#### D. Cromatografia a gás

A cromatografia a gás é um excelente método para separação e análise quantitativa de misturas de gases (14, 17, 30, 37, 44). Essa técnica também foi



empregada com resultados satisfatórios nas análises de oxigênio em cervejas (3), de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{O}_2$  e  $\text{N}_2$  em alimentos enlatados (46) e no espaço livre de embalagens flexíveis (39).

As mudanças nos gases do espaço livre podem ser relacionadas com dano microbiano, corrosão do recipiente e deterioração do produto.

Luh e outros (19) utilizaram a cromatografia a gás na análise de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{O}_2$  e  $\text{N}_2$  no espaço livre de vários alimentos processados, por meio de uma coluna de peneira molecular (Linde 13 x) de sílica gel, com argônio ou hélio como gás transportador. Foi mostrado que no espaço livre de damascos enlatados inteiros não descaroados ocorria um conteúdo de hidrogênio muito mais alto do que em damascos em metades. Isso era devido, provavelmente, aos compostos químicos nos caroços atuando como receptores de estanho. Também foi observado que em damascos enlatados inteiros, ocorria, ocasionalmente, estufamento durante o armazenamento, devido ao acúmulo de hidrogênio no espaço livre.

#### E. Corrosão de lata

As três reações que ocorrem na corrosão de alimentos enlatados, são: dissolução do estanho, dissolução da base de aço e evolução do hidrogênio.

Frankenthal e outros (8) estudaram o mecanismo da corrosão da fôlha-de-flandres por vários produtos alimentares. Verificaram que em sucos de "grapefruit" e tomate, o hidrogênio é envolvido como o dissolvente de estanho, ao passo que, em ameixas, esse gás apenas é envolvido quando a base de aço é atacada. Também foi acentuado que os diferentes mecanismos de corrosão em vários produtos alimentares se deve, provavelmente, à presença de um despolarizador catódico em alguns alimentos (ameixas), ou não, em outros (suco

de grapefruit). Teoricamente, um despolarizador catódico é uma substância capaz de oxidar o estanho mais rapidamente do que o íon hidrogênio.

Luh e outros (19) verificaram que a porcentagem de hidrogênio e o volume total de hidrogênio no espaço livre de damascos enlatados, eram relacionados, em certa extensão, ao grau de corrosão da lata.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### A. Procedimentos de colheita e manuseio

Os damascos Blenheim, utilizados nesta investigação, foram produzidos no Wolfskill Experimental Orchards, Winters, Califórnia, e foram fornecidos por J.C. Crane e E.L. Claypool do Departamento de Pomologia, Universidade da Califórnia, Davis. Frutos de média maturidade foram utilizados em todos os estudos realizados.

#### a) Armazenamento pós-colheita

Os damascos Blenheim, utilizados neste estudo, foram colhidos em 24 de junho de 1962, transportados para Davis e armazenados a 0°C, como se segue:

$E_1$  = sem armazenamento (contrôle)

$E_2$  = 2 semanas

$E_3$  = 4 semanas

$E_4$  = 6 semanas

$E_5$  = 9 semanas

#### b) Época de processamento

Os damascos Blenheim foram colhidos em 24 de junho de 1962, transportados para Davis e armazenados durante 20 horas a 2,8°C.



## B. Procedimentos de enlatamento

Tôdas as frutas foram enlatadas na usina-pilôto do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade da Califórnia, Davis. As frutas foram selecionadas pela maturidade e apenas aquelas de média maturidade foram enlatadas. Os damascos sub e supermaduros foram descartados.

### a) Armazenagem de pós-colheita

Os damascos foram escolhidos, lavados, subdivididos ao meio e descaroçados. Exatamente 551,85 g de damascos em metades, foram acondicionadas em latas de fôlha estanhada por electrólise diferencial Nº 2 1/2 (401 x 411). Adicionou-se às latas, xarope de sacarose de 40° Brix, de modo a se ter um espaço livre de 5/16 a 7/16 polegada. As latas foram seladas numa recravadeira mecânica a vácuo, sob vácuo de 16 polegadas, processadas durante 19 minutos num cozedor rotatório a 98,9°C e armazenadas a 21,1°C. Foram executadas análises químicas e físicas, a intervalos de 3 meses.

### b) Tempo de processamento

Os damascos foram escolhidos e lavados e as seguintes condições foram estabelecidas para os procedimentos de enlatamento:

<u>Amostra</u>	<u>Tipo de enlatamento</u>	<u>Tempo de processamento em minutos a</u> <u>98,9°C</u>
F <sub>1</sub>	Inteiros, sem pele	7
F <sub>2</sub>	Metades mais caroços	7
F <sub>3</sub>	Metades	7
F <sub>4</sub>	Inteiros, sem pele	21
F <sub>5</sub>	Metades mais caroços	21
		(continua)



(continuação)

F <sub>6</sub>	Metades	21
F <sub>7</sub>	Inteiros sem pele	32
F <sub>8</sub>	Metades mais caroços	30
F <sub>9</sub>	Metades	30

Exatamente 475,44 g de frutas (inteiras, metades mais caroços ou metades apenas) foram acondicionadas em latas de fôlha estanhada por electrólise diferencial nº 2 1/2 (401 x 411) e adicionou-se xarope de sacarose de 40° Brix de modo a ter-se um espaço livre de 5/16 a 7/16 polegada.

As amostras F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub> e F<sub>6</sub> foram desaeradas durante 9 minutos antes da operação de selagem. As amostras entraram no exaustor a 33,9°C e saíram a 73,9°C. Todas as amostras (de F<sub>1</sub> e F<sub>9</sub>) foram seladas numa recravadeira mecânica a vácuo, sob vácuo de 16 polegadas, e processadas num cozedor rotatório a 98,9°C. As latas foram esfriadas em esfriador rotatório, durante 7 minutos, e armazenadas a diferentes temperaturas: 21,1 e 30°C. Foram efetuadas análises químicas e físicas a intervalos de 3 meses.

### C. Métodos analíticos

#### a) Teste de pressão

Um teste de pressão Magness-Taylor (20), equipado com um êmbolo de 7/16 polegada e tendo uma amplitude de pressão de 0 a 10 libras, foi utilizado para determinar a firmeza em damasco fresco. As leituras de pressão foram tomadas em cada verificação de fruta após a despelagem manual. Foram feitas 20 determinações em cada amostra de 10 frutas e a média dessas determinações representava a pressão média.

#### b) Sólidos solúveis

As determinações foram efetuadas a 20°C num refractômetro Zeiss-Opton por leitura da escala Brix. As leituras são expressas como porcentagem de sólidos solúveis.

#### •c) Determinações de pH

Um peagâmetro Leeds & Northrup modelo 7664-A<sub>1</sub> foi utilizado para medir o pH das amostras. Frutas ao natural misturadas e frutas misturadas enlatadas mais xarope, foram utilizadas para determinações de pH em damascos frescos e enlatados, respectivamente.

#### d) Acidez total titulável

Um titulador automático Beckman, modelo K, foi utilizado para determinar a acidez total titulável. Uma amostra representativa de fruta ao natural era macerada num liquidificador, durante 1 minuto. No produto enlatado, a fruta e o xarope de cada lata eram misturados juntos, durante 1 minuto, e a massa resultante utilizada para análise. Em ambos os casos, amostras de 10 gramas eram pesadas num "beaker" de 250 ml, diluídas em 150 ml de água destilada e a mistura era titulada com NaOH 0,1 N a pH 8,0. Os resultados são expressos como porcentagem de ácido cítrico.

#### e) Determinação de textura

As determinações de textura foram feitas num L.E.E. Kramer Comptroller Electronic Shear-Press (L.E.E., Inc., Washington, D.C.). Foram feitas três leituras em cada amostra de damascos, ao natural e enlatado, utilizando-se, para cada leitura, 150 gramas de frutas. A amostra era colocada na célula-teste do Shear-Press. Anéis de 3.000 500 libras foram usados para testar os damascos ao natural e enlatado, respectivamente. Os ajustamentos do mostrador para as frutas frescas variavam de 300 a 1.000 libras. O mostrador era ajustado para 200 libras para o produto enlatado. Em todos



os casos, as leituras eram convertidas na base de 100 libras. O tempo decorrido do início do movimento para baixo do anel, até passar através do produto na célula-teste, era de 1 minuto  $\pm$  5 segundos (15). O percurso total era transmitido a um registrador que locava, num gráfico, uma curva de tempo-fôrça. A área sob a curva era calculada pelo emprego de um planímetro. Os resultados são relatados em polegadas quadradas.

f) Determinação e caracterização das substâncias pecticas em damascos enlatados

O método descrito por Postlmayr e outros (28), foi empregado para extrair a pectina total e a protopectina do fruto.

O método descrito por McCready e McComb (22) foi empregado para separar a pectina solúvel em água do xarope.

O método colorimétrico de carbazol, conforme modificado por McCready e McComb (22), foi empregado para determinar o conteúdo de ácido anidro-urônico. A intensidade da cor rósea desenvolvida, foi medida no colorímetro fotoelétrico Klett-Summerson, com filtro verde nº 54.

A porcentagem de esterificação das substâncias pecticas foi determinada pelo método descrito por Gee e outros (9).

O conteúdo de acetil foi determinado colorimetricamente pelo método de ácido hidroxâmico de McComb e McCready (21).

g) Determinação da viscosidade do xarope

O xarope de 4 latas de damasco foi drenado durante 2 minutos através de uma peneira de 8 "mesh". O xarope foi combinado e centrifugado durante 30 minutos



a 2.100 r.p.m. Determinou-se o tempo requerido para 15 ml do centrifugado se escoar através do tubo capilar de um viscosímetro Ostwald, a 30°C, utilizando-se água como referência.

A gravidade específica do xarope a 30°C foi determinada utilizando-se um picnômetro de 10 ml. A viscosidade relativa do xarope àquela de água destilada a 30°C (11) é dada em "centipoise".

#### h) Atividade polifenólase e peroxídase

Os damascos Blenheim foram colhidos nos pomares experimentais de Wolfskill. As frutas foram mantidas durante 20 horas a 2,8°C. A média do teste de pressão (Testador de Pressão Magness - Taylor, êmbolo de 7/16 polegada) das frutas foi de 2,2 libras. As frutas foram subdivididas, descaroçadas, acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas a 26,3°C. A atividade enzimica foi investigada nas frutas frescas e no produto enlatado (amostras F<sub>4</sub>, F<sub>7</sub> e F<sub>8</sub>). A atividade enzimica foi determinada no produto enlatado após 6 meses de armazenamento a 21,1°C.

Os ênzimos foram extraídos como descrito por Reyes e Luh (32). Foram utilizados 100 gramas de damascos frescos e 130 de damascos enlatados. O extrato final de ênzimo era contido em 30 ml de tampão de acetato 0,01 N, pH 5,6. A preparação de ênzimo foi conservada a 0°C, em tubo de ensaio arrolhado.

As atividades polifenólase e peroxídase foram determinadas pelo método colorimétrico descrito por Reyes e Luh (32). A atividade enzimica é expressa como unidades Klett/minuto/grama de tecido.

#### \* i) Cromatografia a gás dos gases do espaço livre

Coleta da amostra de gás. Os gases do espaço livre da lata foram coletados sob água acidificada com 0,5% de ácido cítrico, para diminuir a solubilidade de CO<sub>2</sub> em água (19).

Um funil invertido de 4 polegadas, adaptado a uma proveta invertida de 100 ml, era colocado sobre a tampa da lata, que foi perfurada duas vezes perto da recravação com um abridor de lata. Os gases do espaço livre eram coletados no topo da proveta invertida e o volume total medido. Os gases do espaço livre eram transferidos da proveta para um funil invertido, adaptado na sua extremidade com uma cápsula de soro, que permitia amostragem por meio de uma seringa de 0,50 ml. Uma amostra de gás de 0,2 a 0,4 ml era injetada na coluna de uma unidade cromatográfica a gás Aerograph A-90 - C (Wilkins Instrument and Research, Inc., Walnut Creek, Califórnia). A separação era efetuada numa coluna de dois estágios (19). As condições para a cromatografia a gás eram as seguintes:

Temperatura: 23 a 26°C (temperatura ambiente).

Transportador de gás: argônio a 0,365 kg/cm<sup>2</sup> e com velocidade de fluxo de 50 a 60 ml por minuto.

Coluna: 5" SiO<sub>2</sub>, peneira molecular 10' e coluna vazia 10'.

Diâmetro da coluna:  $\frac{1}{4}$ "

Corrente de filamento: 150 mA.

Velocidade do gráfico de registro: 60 pol/h.

Processo de cálculo: A interpretação quantitativa do cromatograma era baseada na área pico e as quantidades de cada gás presente no espaço livre, expressas em porcentagem (19, 39). O volume de cada gás era obtido pela multiplicação de sua porcentagem pelo volume total dos gases encontrados no espaço livre da lata.

#### j) Corrosão da lata

As determinações de corrosão do estanho nas latas que foram cheias com damascos e armazenadas a 21,1 e 30°C, foram efetuadas pelo método electrolítico de raspagem de estanho. Este método mede o estanho



residual da lata. Uma lâmina circular de 4 polegadas quadradas era cortada da lata, adaptada a um suporte especial e colocada num recipiente apropriado contendo uma solução de ácido clorídrico 1:10 (v/v), na qual o estanho era anódicamente removido da lâmina de aço. A corrente elétrica era mantida a 250 mA. Um eléctrodo de prata de referência atuava como cátodo e a lâmina de estanho como ânodo. As mudanças de voltagem ocorrendo entre os eléctrodos eram transmitidas a um registrador, o qual assinalava num gráfico a curva de tempo-potencial com dois pontos finais sucessivos. O primeiro era devido ao estanho livre da fôlha-de-flandres e o segundo à liga de estanho da fôlha-de-flandres. Computando-se ambos os pontos finais, o estanho residual total na fôlha-de-flandres da lata era determinado. Os resultados são expressos como porcentagem de perda de estanho por peso.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### A. Armazenagem de pós-colheita a 0°C

Nos últimos anos, o número da incidência de amolecimento da textura de damascos enlatados tem sido crescente. Especulou-se que isso poderia ser devido à armazenagem a 0°C das frutas maduras, antes do enlatamento. Tanto o amolecimento fisiológico pode ser envolvido, como a ação de enzimas pécnicos secretados por fungos na fruta pode ser responsável. Entretanto, não existe qualquer evidência experimental em apoio às hipóteses. Um teste de armazenamento a frio, entretanto, foi feito com damascos Blenheim para determinar se amoleciam após o enlatamento.

#### • a) Mudanças físico-químicas

O Quadro 1 mostra o efeito da armazenagem de pós-colheita a 0°C sobre certas propriedades físico-químicas de damascos Blenheim frescos e enlatados. Os dados de testador de pressão Magness-Taylor(Quadro 1,a)



mostram uma variação na firmeza das frutas para o tempo de enlatamento de 2,2 a 4,3 libras, enquanto que as leituras do Shear-Press variavam de 8,0 a 9,60 polegadas quadradas. As leituras estavam dentro da variação normal para enlatamento. Esses dados indicam que a armazenagem de pós-colheita a 0°C, por períodos além de nove semanas, não resulta em qualquer grande modificação na firmeza da fruta fresca.

Os sólidos solúveis e a acidez total nos damascos decresceram gradualmente, enquanto o tempo de armazenagem de pós-colheita aumentava. A redução dos sólidos solúveis provavelmente era causada pelo metabolismo dos açúcares das células em respiração. A diminuição da acidez durante o armazenamento pode ter sido causada pela diminuição em ácidos cítrico e málico, os quais sabe-se que estão presentes em quantidade significativa nos damascos Bleinheim (12). A mesma tendência era encontrada no produto enlatado (Quadro 1,b).

As amostras E<sub>4</sub> e E<sub>5</sub>, que antes do enlatamento foram armazenadas a 0°C durante 6 e 9 semanas, respectivamente, possuíam sabor estranho distinto.

A textura do produto enlatado, conforme avaliada pelo Lee-Kramer Shear-Press, diminuiu de uma média de 8,64 pol. quadradas na fruta fresca, para 2,62 pol. quadradas no produto enlatado. Quando os produtos enlatados eram armazenados a 21,1°C, amolecera em certa extensão. Maior amolecimento ocorreu nas amostras que foram armazenadas durante 6 a 9 semanas a 0°C antes do enlatamento. As amostras foram classificadas como tipo escolha pela qualidade de acordo com os padrões do U.S.D.A. (42). Os dados indicam que o amolecimento incomum na textura dos damascos enlatados não pode ser atribuído ao armazenamento a frio de pós-colheita.

#### b) Substâncias pecticas nos damascos enlatados

1. Pectina solúvel em água e viscosidade do xarope. O conteúdo de pectina solúvel em água no pro-

Quadro 1. Efeito da armazenagem de pós-colheita a 0°C, sobre o pH, sólidos solúveis, acidez total e textura de damascos Blenheim.

(a) Fruta fresca.

Amostra	Tempo de armazenagem a 0°C semanas	Textura		pH	Acidez total como % de ácido cítrico	Sólidos solúveis a 20°C, em %
		Teste de pressão Magness-Taylor, em libras	Lee-Kramer Shear-Press pol. quadr.			
E <sub>1</sub>	0	3,5	8,56	3,88	1,202	16,0
E <sub>2</sub>	2	4,3	8,40	4,06	0,888	15,6
E <sub>3</sub>	4	4,1	9,60	4,24	0,718	15,0
E <sub>4</sub>	6	2,2	8,63	4,38	0,632	15,1
E <sub>5</sub>	9	3,3	8,00	4,40	0,632	14,6
	.					.

Quadro 1. (em continuação)

(b) Fruta enlatada

Amostra	Tempo de armazenagem a 0°C, antes do enlatamento, em semanas	1 dia após o enlatamento			Textura* após o tempo de armazenagem em meses (pol. quadrada).			
		pH	Acidez total como % ac. cítrico	Sólidos solúveis a 20°C, em %	0(1 dia)	3	6	9
E <sub>1</sub>	0	3,96	0,717	24,3	2,51	2,18	2,18	2,10
E <sub>2</sub>	2	4,10	0,591	24,1	3,05	2,13	2,33	2,22
E <sub>3</sub>	4	4,31	0,441	24,7	2,48	2,17	2,12	1,88
E <sub>4</sub>	6	4,41	0,443	24,1	2,53	1,90	2,05	1,73
E <sub>5</sub>	9	4,43	0,398	23,7	2,56	1,74	2,06	1,74

\* Armazenagem a 21,1°C e textura determinada no Lee Kramer Shear-Press.



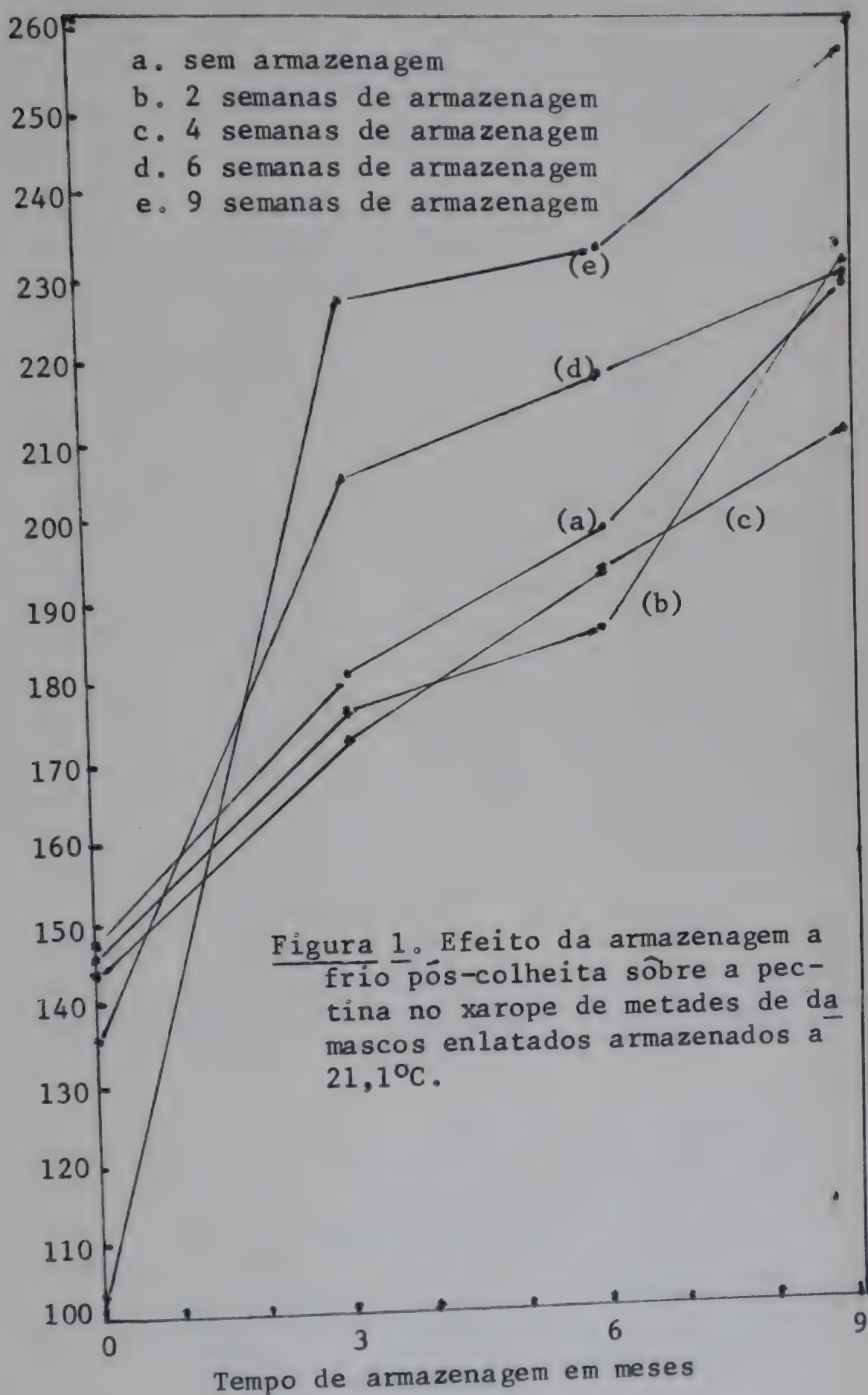
duto enlatado é uma indicação das mudanças de textura durante o armazenamento. Os dados da Fig. 1 mostram os efeitos dos períodos variados de armazenamento, antes e depois do enlatamento, sobre a pectina do xarope. Imediatamente depois do enlatamento (Fig. 1), a amostra sem armazenamento de pós-colheita era a mais alta em pectina de xarope, seguida, em ordem decrescente, pelas amostras que tinham sido armazenadas por tempos progressivamente mais longos. A razão disso não é clara, mas parece ser devida a algumas mudanças físico-químicas nos componentes das paredes das células, além da protopectina, as quais impedem a difusão de alguns dos materiais solúveis dos tecidos das frutas ao xarope, durante o processo de cozimento.

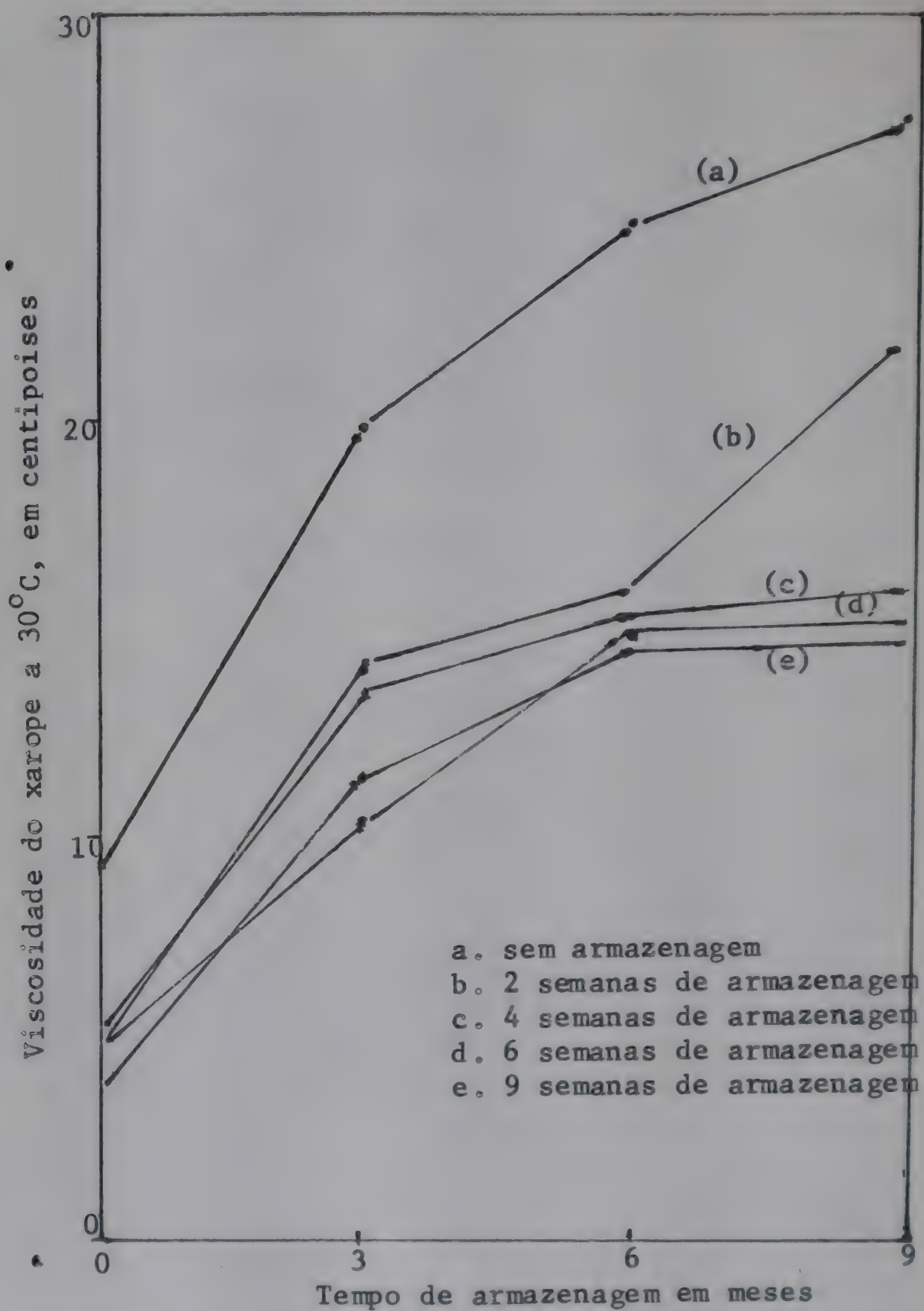
Durante o armazenamento a 21,1°C, esses materiais solúveis se difundiam rapidamente ao xarope.

Os dados da Fig. 2 mostram que quanto mais tempo a fruta era conservada em armazém, antes do enlatamento, menor era a viscosidade do xarope.

As amostras armazenadas durante 6 a 9 semanas antes do enlatamento, mostraram um aumento muito rápido na pectina solúvel em água, enquanto o controle e as amostras de 2 e 4 semanas de armazenamento a frio, mostraram uma velocidade mais lenta de aumento. O maior aumento ocorreu durante os três primeiros meses de armazenamento. O mesmo era verdade para o aumento da viscosidade do xarope (Fig. 2).

As amostras que foram armazenadas por um período mais longo, antes do enlatamento, mostraram um aumento mais rápido na pectina do xarope (Fig. 1), mas eram muito mais lentas na viscosidade do xarope (Fig. 2). Isso sugere a presença de enzimas pectícos devida a fungo ou às próprias frutas, as quais podem causar hidrólise da pectina para unidades menores de um peso molecular médio mais baixo. Tais unidades menores se difundiriam da fruta ao xarope durante o armazenamento, causando um conteúdo mais alto de pectina solúvel em





**Figura 2.** Efeito da armazenagem a frio pós-colheita sobre a viscosidade do xarope de metades de damascos enlatados armazenados a 21,1°C.



água e uma viscosidade mais baixa no xarope. Havia uma relação regularmente estreita entre o aumento na pectina solúvel em água no xarope (Fig. 1) e o amolecimento do produto enlatado, durante o armazenamento a 21,1°C (Quadro 1, b).

c) Relação da protopectina da fruta com a pectina total no produto enlatado

A protopectina atua como um material de cimentação entre as paredes das células e é responsável pela textura do tecido da fruta.

O Quadro 2 mostra a relação da protopectina da fruta com a pectina total no produto enlatado (fruta e xarope combinados). Um dia após o enlatamento, a amostra sem armazenamento de pós-colheita era a mais alta em protopectina. Durante o período de armazenamento a frio, mais protopectina era transformada em pectina solúvel. Todas as amostras mostraram uma diminuição em protopectina durante o armazenamento a 21,1°C. Assim, parece provável que o armazenamento a frio de pós-colheita antes do enlatamento e o armazenamento a 21,1°C após o enlatamento, contribuíram para a conversão lenta da protopectina em pectina solúvel, o que resulta em amolecimento gradual na textura do produto enlatado.

d) Características da pectina isolada de damascos enlatados

O efeito do armazenamento de pós-colheita dos damascos sobre as características da pectina isolada de damascos enlatados, armazenados a 21,1°C durante 6 meses, é mostrado no Quadro 3. Em geral, a porcentagem de esterificação na pectina decresceu durante o período de armazenamento a frio de pós-colheita. Os grupos de carboxilo livre são formados na molécula da pectina pela hidrólise da ligação éster. A porcentagem de acetilo na pectina também decrescia quando ope-

Quadro 2. Efeito do armazenamento a frio de pós-colheita a 0°C de damascos Blenheim na relação \* de protopectina da fruta para a pectina total no produto enlatado.

Amostra	Tempo de armazenamento antes do enlatamento a 0°C, em semanas	Relação de protopectina da fruta para pectina total no produto enlatado durante o tempo de armazenagem a 21,1°C em meses			
		0(1 dia)	3	6	9
E <sub>1</sub>	0	65,81	64,71	63,67	59,59
E <sub>2</sub>	2	63,66	63,41	61,70	59,74
E <sub>3</sub>	4	63,51	63,14	63,70	59,34
E <sub>4</sub>	6	62,60	60,28	60,52	59,86
E <sub>5</sub>	9	61,90	60,38	60,38	58,39

\* Ver o apêndice.

riodo de armazenamento de pós-colheita aumentava. O ligeiro decréscimo no conteúdo de metoxilo nas amostras com armazenamento a frio prolongado, pode ser atribuído à ação lenta da pectinastêrase na pectina. A quantidade dos decréscimos é um tanto pequena e não pode ser usada para explicar o amolecimento de certos lotes de damascos enlatados.

#### B. O efeito do processamento térmico e armazenamento nas mudanças de textura e pectina

Admite-se, geralmente, que o processador pode, dentro de certos limites, ajustar a textura de damascos enlatados pelo contrôlo do processamento térmico. Uma fruta mais firme pode ser processada a quente durante um período ligeiramente maior, para se obter uma tex-



tura mais mole. Entretanto, nenhum estudo sistemático foi feito quanto ao efeito da temperatura de processamento e armazenagem sobre a textura do produto enlatado. Em vista disso, foi realizado um experimento para estudar os efeitos dos diferentes tempos de cozimento e das diferentes temperaturas de armazenamento nas mudanças de textura e de pectina na fruta. Todas as frutas eram da mesma textura antes do enlatamento.

#### a) Mudanças de textura

Os dados no Quadro 4 mostram os efeitos dos vários tempos de cozimento e de temperatura de armazenamento nas mudanças de textura do produto enlatado. É evidente que o tempo de cozimento tem um comportamento direto sobre a textura do produto enlatado. Os damascos cozidos durante 30 minutos a  $98,9^{\circ}\text{C}$  eram mais macios na textura, conforme indicado pelos dados baixos do Lee Kramer Shear-Press. Quando o produto enlatado era armazenado a  $21,1^{\circ}\text{C}$  um amolecimento gradual posterior na textura ocorria durante o período de 12 meses de armazenamento. Quando os produtos eram armazenados a  $30^{\circ}\text{C}$ , ocorria uma velocidade muito mais rápida de amolecimento. As amostras que foram cozidas durante 30 minutos eram incomumente moles, após 9 a 12 meses de armazenamento. As mesmas amostras que foram cozidas durante 7 minutos também amoleceram durante o armazenamento, porém, eram consistentemente mais firmes do que aquelas recebendo o cozimento durante 30 minutos.

Verificou-se ser importante o tipo de embalagem em relação à textura do produto. Geralmente, as frutas enlatadas inteiras eram ligeiramente mais firmes na textura, do que aquelas enlatadas em metades.

Dêstes resultados, pode-se concluir que a textura de damascos enlatados pode ser ajustada dentro de certos limites, variando o tempo de cozimento.



Quadro 3. Efeito do armazenamento a frio de pós-colheita, a 0°C sobre as características de pectina em damascos enlatados, armazenados a 21,1°C, durante 6 meses.

Amostr	Armazenagem a 0°C em semanas	Acidez livre de resíduo	Ésteres de resíduo	Acetilo mg/g de resíduo	Carboxilos de ácido urônico total	% de ácido urônico anidro no resíduo	Estereificação	% de acetilo no resíduo	% de acetilo na pectina
E <sub>1</sub>	0	0,472	1,24	0,346	1,366	24,04	65,45	1,487	6,19
E <sub>2</sub>	2	0,478	1,26	0,346	1,392	24,50	65,66	1,487	6,07
E <sub>3</sub>	4	0,500	1,22	0,334	1,386	24,39	63,92	1,436	5,89
E <sub>4</sub>	6	0,486	1,28	0,340	1,426	25,10	65,91	1,462	5,83
E <sub>5</sub>	9	0,568	1,21	0,340	1,438	25,30	60,50	1,462	5,30

Quadro 4. Efeito do cozimento e tempo de armazenagem na textura de damascos enlatados.

Amostra	Tipo de Enlatamento	Tempo de cozimento minutos	Textura conforme medida pelo Lee, Framer ShearPress (pol.quadr ) apos o tempo de armazenamento, meses				
			(1 dia)	3	6	9	12
Armazenamento a 21,1°C							
F1	Inteira	7	4,59	5,19	3,48	3,07	3,10
F2	Metades+ caroços	7	3,33	2,69	2,58	2,85	3,32
F3	Metades	7	4,08	3,02	3,34	3,60	3,19
Armazenamento a 21,1°C							
F4	Inteira	21	1,76	2,11	1,67	1,66	1,43
F5	Metades+ caroços	21	1,74	1,99	1,49	1,50	1,44
F6	Metades	21	1,77	1,84	1,49	1,41	1,32
Armazenamento a 21,1°C							
F7	Inteira	30	1,85	1,62	1,59	1,54	1,15
F8	Metades+ caroços	30	1,52	1,45	1,49	1,58	1,13
F9	Metades	30	1,47	1,68	1,40	1,39	1,00
Armazenamento a 30°C							
F1	Inteira	7	4,59	2,70	1,92	1,32	0,96
F2	Metades+ caroços	7	3,33	1,97	1,55	1,17	0,78
F3	Metades	7	4,08	2,12	1,49	1,03	0,49
Armazenamento a 30°C							
F4	Inteira	21	1,76	1,08	0,77	0,65	0,35
F5	Metades + caroços	21	1,74	1,27	0,91	0,78	0,55
		21	1,74	1,27	0,91	0,78	0,55
F6	Metades	21	1,77	1,10	0,84	0,55	0,23,
Armazenamento a 30°C							
F7	Inteira	30	1,85	1,18	0,92	0,58	0,27
F8	Metades+ caroços	30	1,52	0,98	0,86	0,63	0,24
F9	Metades	30	1,47	1,09	0,97	0,69	0,30



Para minimizar o amolecimento durante o armazenamento, é aconselhável armazenar o produto a  $21,1^{\circ}\text{C}$  ou menos. Estes testes indicam que o Lee Kramer Shear-Press é um instrumento útil para medir objetivamente a textura de frutas enlatadas. Os damascos enlatados dando leituras no Lee Kramer Shear-Press inferiores a 1,0 polegada quadrada, eram de textura muito pobre e mole.

#### b) Pectina do xarope

Os dados do Quadro 5 mostram o efeito do tempo de cozimento e da temperatura de armazenamento no conteúdo de pectina do xarope de damascos enlatados. É claro que damascos enlatados inteiros eram inferiores em pectina solúvel do que aqueles enlatados em metades. Isto pode ser explicado pela difusão mais rápida da pectina solúvel em água ao xarope de damascos em metades. A pele atua como barreira nas frutas inteiras e abaixa a velocidade de difusão da pectina solúvel em água ao xarope. O aumento gradual na pectina do xarope ocorria em todas as amostras durante o armazenamento. A velocidade do aumento era mais rápida nas amostras armazenadas a  $30^{\circ}\text{C}$  do que naquelas a  $21,1^{\circ}\text{C}$ . Esses dados explicam o fato de que damascos enlatados inteiros retêm uma textura mais firme após o enlatamento do que em metades. Isto foi devido, amplamente, a uma melhor retenção da pectina no tecido das frutas inteiras.

#### c) Viscosidade do xarope

Os dados do Quadro 6 mostram o efeito do tempo de cozimento e da temperatura de armazenamento sobre a viscosidade do xarope. Imediatamente após o enlatamento, as amostras que recebiam um cozimento de 30 minutos eram mais altas na viscosidade do xarope do que aquelas cozidas durante 7 minutos. O xarope de damascos enlatados inteiros era consistentemente mais baixo na viscosidade do que aquele de metades. Durante o armazenamento, a viscosidade do xarope aumentou gradualmente com o tempo. O armazenamento a  $30^{\circ}\text{C}$  causou um aumento mais rápido na viscosidade do xarope. Isto



**Quadro 5** Efeito do cozimento no conteúdo de pectina de xarope de damascos enlatados

Amostra	Tipo de enlatamento	Tempo de cozimento minutos	mg de pectina por 100 g de xarope após tempo de armazenamento, meses			
			0(1 dia)	3	6	9
Armazenagem a 21,1 <sup>o</sup> C						
F1	Inteiro	7	16,26	48,84	69,31	73,04
F2	Metades+ caroços	7	77,18	127,05	146,12	154,59
F3	Metades	7	102,58	137,28	155,81	160,21
F4	Inteira	21	46,87	107,85	141,35	151,87
F5	Metades+ caroços	21	91,80	172,16	183,87	219,46
F6	metades	21	98,68	182,49	171,19	201,22
F7	Inteira	30	42,29	119,49	129,65	135,46
F8	Metades+ caroços	30	98,69	159,41	157,98	180,26
F9	Metades	30	128,38	191,63	135,46	221,49
Armazenagem a 30 <sup>o</sup> C						
F1	Inteira	7	16,26	58,66	81,18	91,18
F2	Metades+ caroços	7	77,18	146,00	166,42	202,08
F3	Metades	7	102,58	143,02	160,62	200,78
F4	Inteira	21	46,87	134,19	179,88	202,70
F5	Metades+ caroços	21	91,80	200,11	196,95	220,78
F6	Metades	21	98,68	199,78	203,31	246,42
F7	Inteira	30	42,29	146,41	176,24	205,45
F8	Metades+ caroços	30	98,69	203,31	213,86	245,11
F9	Metades	30	128,38	216,39	217,11	239,46

pode ser explicado pela transferência da pectina do tecido da fruta ao xarope. Quando as moléculas de pectina se difundem ao xarope, causam um aumento na sua viscosidade. Isto era acompanhado pelo amolecimento da fruta.

#### • d) Protopectina na fruta

As mudanças na protopectina da fruta conforme influenciadas pelo tempo de cozimento e a temperatura do armazenamento são mostradas pelos dados do Quadro 7. O conteúdo de protopectina era o mais alto nas amostras recebendo o tempo mais breve de cozimento. Os damascos inteiros eram mais ricos em protopectina do que as metades. Durante o armazenamento, um decréscimo gradual na protopectina, amplamente devido à conversão em pectina solúvel em água no xarope, foi notado em todas as amostras enlatadas.

O armazenamento a  $30^{\circ}\text{C}$  causou um decréscimo mais rápido na protopectina do que a  $21,1^{\circ}\text{C}$ . Isto explica um amolecimento mais rápido na textura a  $30^{\circ}\text{C}$  com um aumento simultâneo da viscosidade no xarope.

#### e) Cromatografia a gás dos gases do espaço livre

Os damascos inteiros ocasionalmente estufaram a lata durante o armazenamento. Isto não ocorreu nos damascos enlatados em metades. Um experimento foi delineado apara estudar o fator ou fatores que causam o estufamento de hidrogênio e a mudança dos gases do espaço livre nos damascos enlatados durante o armazenamento.

• 1. Hidrogênio no espaço livre. Os dados do Quadro 8 e Fig. 3, mostram os efeitos do tempo de cozimento e da temperatura de armazenamento na formação de hidrogênio no espaço livre dos damascos enlatados, inteiros e em metades. É claramente evidente que sob as mesmas condições de armazenamento, os damascos inteiros e

**Quadro 6.** Efeito do tempo de cozimento e armazenamento sobre a viscosidade do xarope de damascos enlatados.

Amostra	Tipo de enlatamento	Tempo de cozimento minutos	Mudanças na viscosidade do xarope (centipoises) após tempo de armazenagem, meses			
			0(1 dia)	3	6	9
Armazenamento a 21,1°C						
F1	Inteira	7	1,83	1,85	1,85	1,86
F2	Metades+ caroços	7	3,63	8,64	8,71	8,76
F3	Metades	7	3,58	7,06	7,75	7,82
F4	Inteira	21	2,90	5,40	9,25	11,16
F5	Metades+ caroços	21	4,28	9,93	12,70	14,70
F6	Metades	21	4,63	10,69	12,83	15,39
F7	Inteira	30	2,50	5,71	9,33	10,53
F8	Metades+ caroços	30	4,55	11,12	14,55	15,81
F9	Metades	30	5,07	12,78	15,28	17,15
Armazenamento a 30°C						
F1	Inteira	7	1,83	1,87	1,87	1,89
F2	Metades+ caroços	7	3,63	7,79	10,04	10,92
F3	Metades	7	3,58	7,38	8,41	11,42
F4	Inteira	21	2,90	7,85	12,30	13,84
F5	Metades+ caroços	21	4,28	12,40	13,37	14,17
F6	Metades	21	4,63	12,60	14,17	17,14
F7	Inteira	30	2,50	8,19	10,74	10,93
F8	Metades+ caroços	30	4,55	14,84	16,50	17,18
F9	Metades	30	5,00	15,16	16,16	17,55



**Quadro 7.** Efeito do tempo de cozimento na relação\* de protopectina da fruta para pectina total em damascos enlatados.

Amostra	Tipo de Enlatamento	Tempo de cozimento minutos	Relação da protopectina da fruta para pectina total durante o tempo de armazenamento, meses.			
			0(1 dia)	3	6	9
Armazenamento a 21,1°C						
F1	Inteira	7	70,49	68,02	67,80	65,09
F2	Metades+ caroços	7	66,04	62,59	57,01	57,17
F3	Metades	7	61,73	60,48	57,55	57,49
F4	Inteira	21	61,57	60,86	58,60	57,22
F5	Metades+ caroços	21	58,34	57,81	54,07	53,13
F6	Metades	21	58,51	57,47	54,97	54,33
F7	Inteira	30	60,36	59,26	54,06	53,47
F8	Metades+ caroços	30	58,87	55,83	53,88	52,96
F9	Metades	30	58,52	55,94	55,36	53,52
Armazenagem a 30°C						
F1	Inteira	7	70,49	68,97	64,48	61,43
F2	Metades+ caroços	7	66,04	58,28	55,08	55,21
F3	Metades	7	61,73	60,86	55,86	54,33
F4	Inteira	21	61,57	55,66	55,20	54,49
F5	Metades+ caroços	21	58,34	57,74	53,54	52,92
F6	Metades	21	58,51	56,30	55,29	50,92
F7	Inteira	30	60,36	56,79	53,07	48,26
F8	Metades+ caroços	30	58,87	54,26	52,69	49,46
F9	Inteira	30	58,52	54,83	53,72	52,33

\* Ver o apêndice.

descaroçados produziram mais hidrogênio no espaço livre do que as metades enlatadas, independentemente do tempo de cozimento.

O armazenamento a 30°C causou maior formação de hidrogênio do que a 21,1°C. A adição de caroços aos damascos em metades durante o enlatamento resultou em maior formação de hidrogênio do que no caso dos damascos em metades apenas. Isto foi verdadeiro para todas as variações no tempo de cozimento e temperaturas de armazenamento e pode ser explicado pela presença de flavonóides ou outros componentes no caroço, que são capazes de formar complexos com o estanho e provocar a corrosão do recipiente.

Os dados da Figura 3 também mostram que a formação de hidrogênio foi mais elevada nos damascos enlatados em metades e armazenados a 30°C do que nas amostras de frutas inteiras ou em metades mais caroços, armazenadas a 21,1°C. Isto era verdadeiro para os três diferentes tempo de cozimento. Entretanto, parece que a temperatura de armazenamento era mais importante do que o tipo de embalagem, em relação à formação de hidrogênio no produto enlatado. Os dados do Quadro 8 mostram que as amostras F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub> e F<sub>6</sub>, que foram exauridas a vapor - durante 9 minutos e depois cozidas durante 21 minutos após selagem - eram mais altas em hidrogênio no espaço livre do que as amostras não exauridas (F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>7</sub>, F<sub>8</sub> e F<sub>9</sub>). Isto era verdadeiro para todas as várias condições de enlatamento e temperaturas de armazenamento. Os dados também mostram que as amostras que não receberam exaustão de vapor, savam mais hidrogênio naquelas cozidas durante 7 minutos do que nas cozidas durante 30 minutos.

#### f) Corrosão de lata

A vida de prateleira dos alimentos enlatados está relacionada à estabilidade do revestimento de estanho. A estabilidade pode variar com o tipo de alimento, as condições de processamento, o oxigênio no

Quadro 8. Efeito da temperatura de armazenamento e tipo de embalagem sobre a formação de hidrogênio.

Amostra	Tipo de embalagem	Tempo de cozimento minutos	ml de hidrogênio no espaço livre da lata				
			Tempo de armazenamento, meses				
			0(1dia)	3	6	9	12
Armazenamento a 21,1 <sup>o</sup> C							
F1	Inteira	7	0,73	3,88	10,42	11,11	14,29
F2	Metades+ caroços	7	0,88	4,15	6,03	8,08	9,97
F3	Metades	7	0,71	3,55	4,50	5,95	6,02
F4	Inteira	21	1,52	5,19	10,68	12,48	16,64
F5	Medades+ caroços	21	1,58	3,47	7,06	12,89	14,49
F6	Metades	21	0,75	2,31	4,37	6,10	6,45
F7	Inteira	30	0,44	1,75	2,34	4,51	5,86
F8	Metades+ caroços	30	0,91	1,82	2,67	3,90	4,70
F9	Metades	30	1,37	1,65	2,35	2,73	3,34
Armazenamento a 30 <sup>o</sup> C							
F1	Inteira	7	0,73	7,51	14,50	23,93	34,30
F2	Metades+ caroços	7	0,88	7,59	14,89	18,26	27,85
F3	Metades	7	0,71	6,64	12,36	16,65	21,74
F4	Inteira	21	1,52	9,95	24,06	35,85	40,34
F5	Metades+ caroços	21	1,58	7,49	30,73	40,73	50,16
F6	Metades	21	0,75	7,10	17,60	24,88	30,67
F7	Inteira	30	0,44	4,11	11,57	13,69	18,96
F8	Metades+ caroços	30	0,91	4,04	7,97	11,49	11,75
F9	Metades	30	1,37	2,61	5,82	10,23	12,48



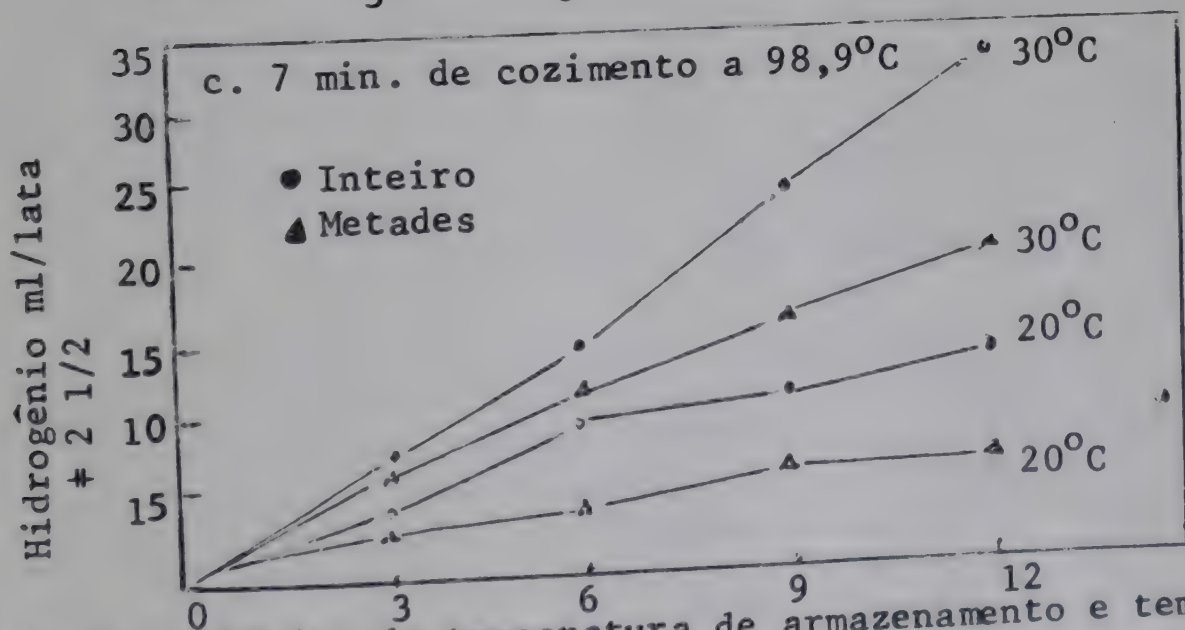
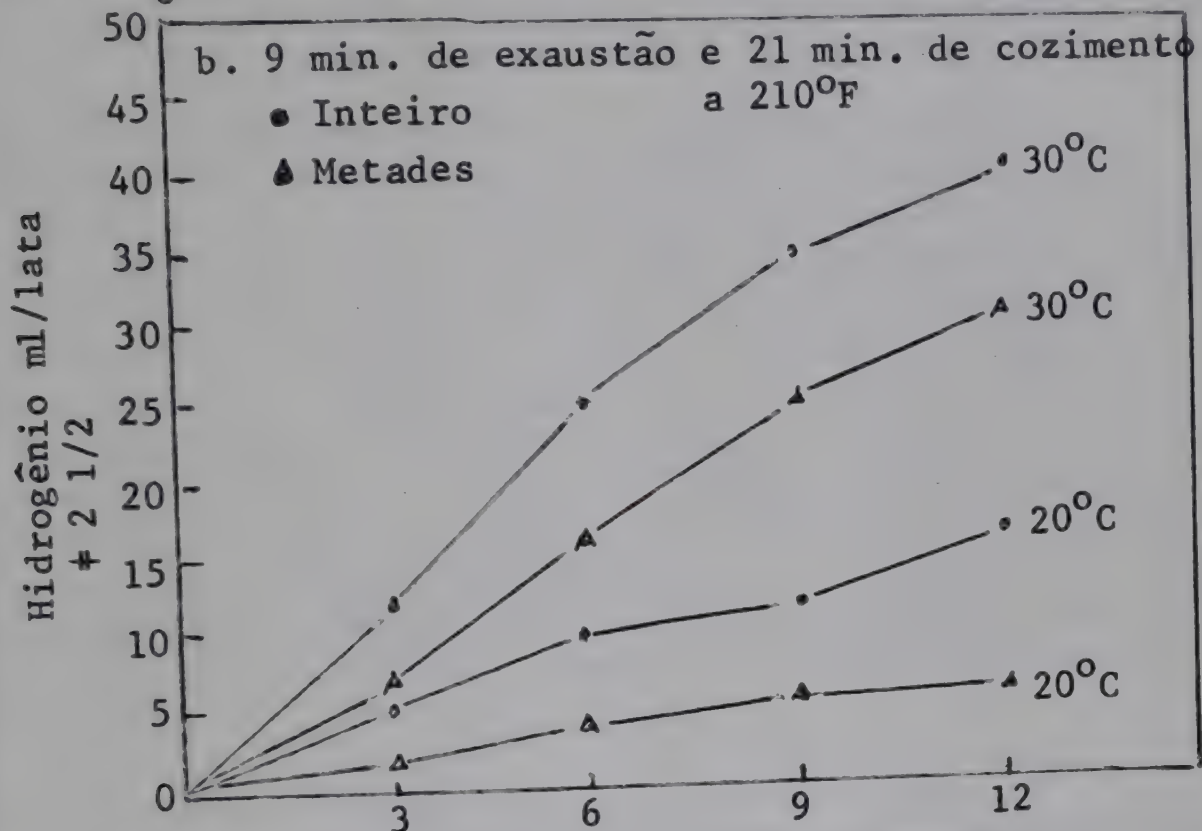
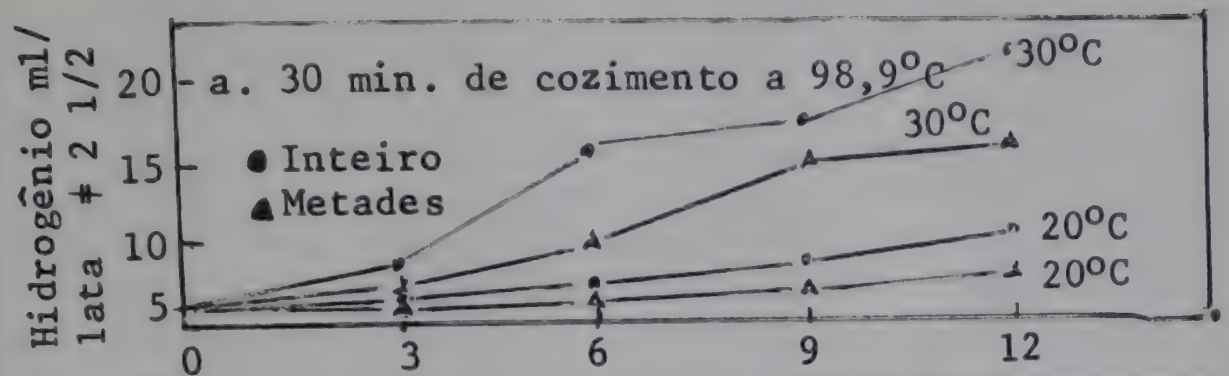


Figura 3. Efeito da temperatura de armazenamento e tempo de cozimento sobre a formação de hidrogênio em da mascos enlatados.

espaço livre e a temperatura de armazenamento do produto enlatado. O tipo de fôlha-de-flandres, seja de banho quente ou electrolítico diferencial, e a base de aço, podem também influir na vida de prateleira do produto enlatado. No caso de damascos enlatados inteiros, verificou-se que o estufamento de hidrogênio ocorre ocasionalmente, embora sua causa não seja clara. Foi feito um estudo dos fatores que influem na corrosão do revestimento de estanho em damascos enlatados.

Os dados do Quadro 9 mostram que a dissolução do revestimento de estanho se processava gradualmente quando os damascos enlatados eram armazenados a 21,1°C. Nessa temperatura, a perda de estanho era apenas de 16,3 - 24,0% dos valores originais, depois de armazenados durante 12 meses. Quando a temperatura de armazenamento era de 30°C, a velocidade de destanhamento era muito mais rápida. Os dados mostram que após o armazenamento a 30°C durante 12 meses, a perda de estanho variou de 31,9 a 51,9%, dependendo do tipo de enlatamento e condições de processamento. Nenhuma das latas mostrou estufamento de hidrogênio, mesmo quando a metade do revestimento de estanho era dissolvida no produto.

O tempo de processamento influenciou ligeiramente na velocidade da dissolução do estanho. O processamento a quente de latas Nº 2 1/2 a 98,9°C durante 30 minutos causou perda mais elevada de estanho do que aquelas processadas durante 7 minutos. A exaustão a vapor parece ter causado uma perda mais alta de estanho imediatamente após o enlatamento.

O enlatamento de damascos em metades com caroço não influenciou na corrosão do revestimento de estanho, embora tivesse sido demonstrado, previamente, que o caroço causava maior formação de hidrogênio. Entretanto, não parece provável que o estufamento ocasional de hidrogênio em damascos enlatados inteiros possa ser atribuído à reação química dos componentes flavonóides no caroço com o revestimento de estanho. A severa

Quadro 9. Efeito da temperatura de armazenamento e tipo de embalagem no destanhamento.

Amostra	Tipo de embalagem	Tempo de cozimento minutos	Perda de estanho, % por pêsco durante tempo de armazenamento, meses				
			0	3	6	9	12
Armazenamento a 21,1°C							
F1	Inteira	7	2,2	16,7	17,2	19,0	16,5
F2	Metades+ caroços	7	3,9	14,2	14,7	16,0	16,3
F3	Metades	7	3,7	17,0	18,2	18,5	19,5
F4	Inteira	21	14,6	19,0	20,5	21,0	24,0
F5	Metades+ caroços	21	12,1	15,5	21,5	22,5	23,2
F6	Metades	21	12,4	19,2	21,3	22,0	22,0
F7	Inteira	30	7,4	19,0	19,5	20,0	22,0
F8	Metades+ caroços	30	5,9	15,0	15,2	15,5	15,7
F9	Metades	30	9,1	17,5	18,0	19,2	19,5
Armazenamento a 30°C							
F1	Inteira	7	2,2	17,5	22,7	33,2	51,9
F2	Metades+ caroços	7	3,9	15,0	21,7	30,2	39,9
F3	Metades	7	3,7	15,3	22,0	32,2	43,8
F4	Inteira	21	17,6	18,3	28,7	35,5	44,0
	Metades+ caroços	21	12,1	19,0	29,0	33,0	45,4
F6	Metades	21	12,4	19,7	25,2	38,5	44,0
F7	Inteira	30	7,4	20,1	25,5	34,2	42,0
F8	Metades+ caroços	30	5,9	15,5	19,0	25,7	31,9
F9	Metades	30	9,1	18,0	21,2	29,2	33,4



dissolução de estanho em damascos enlatados inteiros pode ser devida à presença de oxigênio na fruta inteira, o qual é retido na lata após selagem. Um conteúdo mais alto de oxigênio poderia causar corrosão mais severa da fôlha-de-flandres.

Os dados da Fig. 4 mostram que a temperatura de armazenamento é um fator importante em conexão com a corrosão do revestimento de estanho, quanto mais alta a temperatura maior a quantidade de corrosão. Pode-se concluir, por estes resultados, que a corrosão do revestimento de estanho das latas de damascos está relacionada à exaustão de vapor, ao tempo de cozimento e à temperatura de armazenamento. Entre estes, a temperatura de armazenamento é o fator mais importante.

### C. Atividade polifenólase e peroxídase em damascos enlatados inteiros

Durante o curso desta investigação, observouse que damascos enlatados inteiros, processados a 98,9°C durante 7 minutos, escureciam rapidamente depois de abertas as latas, mesmo que não mostrassem sinais de dano microbiano. Por outro lado, as amostras processadas durante 21 e 30 minutos, assim como metades enlatadas cozidas durante 7 minutos, não escureciam quando as latas eram abertas. Pensou-se que o escurecimento era devido aos ênzimos residuais polifenólase e peroxídase, que aparentemente não eram completamente inativados durante o enlatamento. A amostra F<sub>1</sub>, que mostrou escurecimento rápido, foi analisada para atividades polifenólase e peroxídase. A Fig. 5 mostra a atividade de polifenólase extraída da fruta fresca e de amostras F<sub>1</sub> enlatadas. Um catecol 0,03 M em tampão citrato 0,1 M - fosfato 0,2 M a pH 6,0 foi usado como substrato. A Fig. 6 mostra a atividade da peroxídase extraída de fruta fresca e das amostras F<sub>1</sub> enlatadas. Guaiacol 0,02 M em citrato 0,1 M - fosfato 0,2 M a pH 4,6 foi utilizado como substrato. Para ambos os ênzimos, a velocidade de escurecimento foi linear na parte inicial da reação. O efeito da concentração de ênzimo na velocidade de escurecimento foi claramente demonstrado.

● inteiro não descarado  
 ■ metades mais caroços  
 ▲ metades

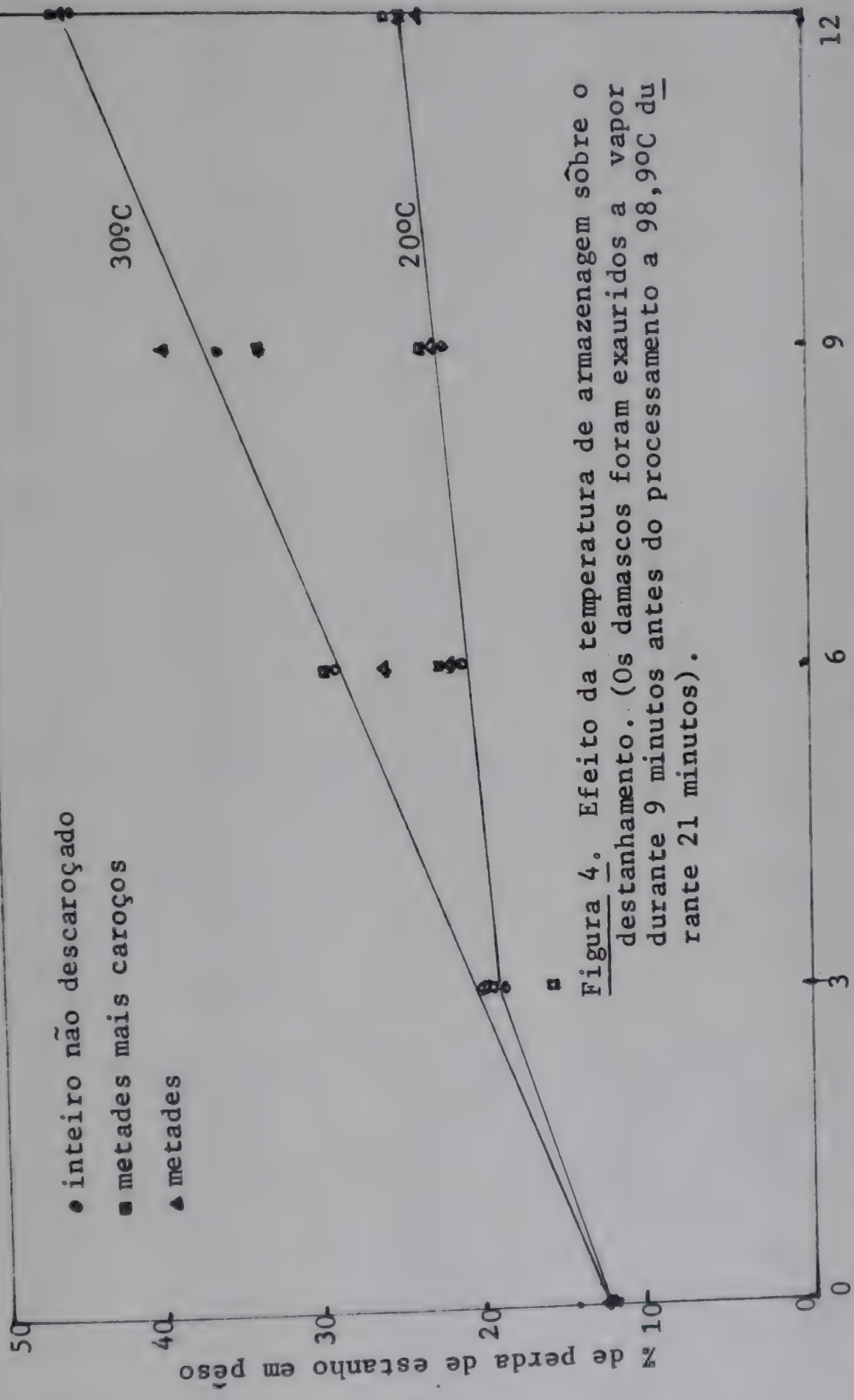


Figura 4. Efeito da temperatura de armazenagem sobre o destanhamento. (Os damascos foram exauridos a vapor durante 9 minutos antes do processamento a 98,9°C durante 21 minutos).

Substrato: 0,030 M catecol em 0,1 M citrato - 0,2 M fosfato a 30°C, pH = 6,0

● Damascos frescos

▲ Damascos inteiros enlatados e cozidos a 98,9°C durante 7 minutos e armazenados a 21,1°C durante 6 meses.

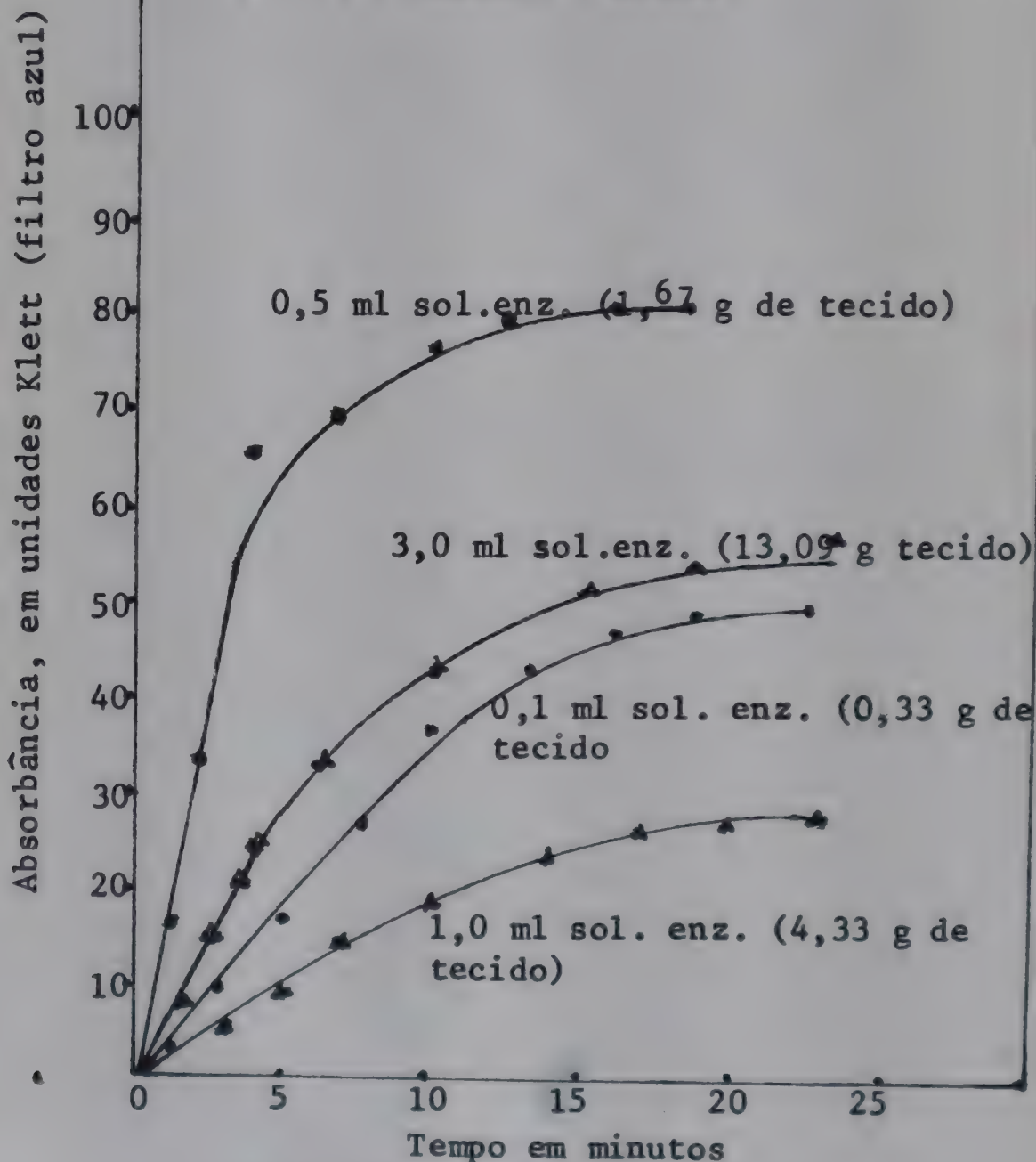


Figura 5. Atividade polifenólase em damascos Blenheim.



Uma comparação da atividade relativa no produto fresco e enlatado, indica que 4,58% da polifenólase e 9,55% da peroxidase permaneceram, respectivamente, no produto enlatado. O escurecimento da amostra F<sub>1</sub> foi devido, portanto, à atividade residual da polifenólase e peroxidase quando o oxigênio tornou-se disponível depois que a lata era aberta.

Sabe-se que a peroxidase é mais resistente ao calor do que a polifenólase. Isso foi provado ser verdade em damascos (Quadro 10).

Embora tenha sido relatado (26) que o processamento térmico de damascos em metades a 87,8°C durante 7 minutos é suficiente para inativar os enzimas responsáveis pelo empardecimento, isto não era assim no caso de damascos enlatados inteiros. Também foi relatado (33, 54, 55, 56) que a regeneração da atividade peroxidase pode ocorrer após o processamento.

Dois fatores podem ser, simultaneamente, responsáveis pela presença de enzimas ativos na amostra F<sub>1</sub>: a) a falta de inativação dos enzimas (polifenólase e peroxidase) devida a uma velocidade mais lenta de penetração do calor na fruta inteira; e b) a regeneração parcial da atividade do enzima (peroxidase) depois do processamento térmico.

Uma comparação foi feita do conteúdo de ácido ascórbico da amostra F<sub>1</sub> (cozida durante 7 minutos) e da amostra F<sub>7</sub> (cozida durante 30 minutos). A última não continha, praticamente, ácido ascórbico, enquanto que a amostra F<sub>1</sub> continha 4,2 mg por 100 g de tecido. Entretanto, a fruta subprocessada é indesejável por causa da rápida perda em ácido ascórbico depois que a lata era aberta. Ademais, os enzimas residuais oxidativos poderiam criar um sério problema de empardecimento.

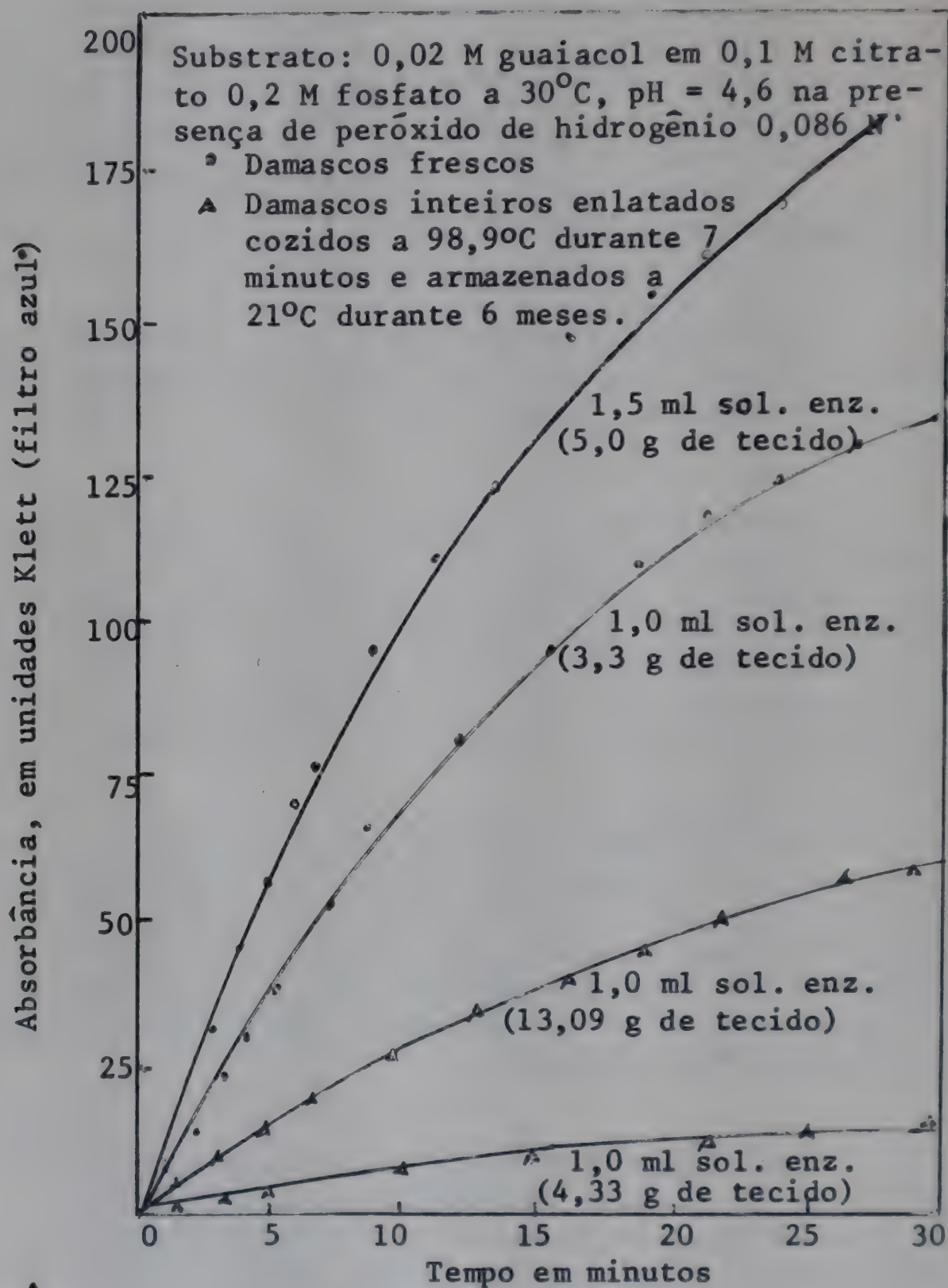


Figura 6. Atividade peroxidase em damascos Blenheim.

Quadro 10. Atividade de polifenólase residual e peroxídase em damascos frescos e enlatados inteiros, cozidos durante 7 minutos a 98,9°C.

Enzimo	Damascos frescos	Damascos enlatados inteiros armazenados a 21,1°C durante 6 meses	% de atividade residual em produto enlatado
	Unidades Klett por minuto por grama de tecido	Unidades Klett por minuto por grama de tecido	
Polifenólase	10,70	0,49	4,58
Peroxídase	2,20	0,21	9,55



## Apêndice

A relação entre a protopectina da fruta e a pectina total em damascos enlatados (combinação de fruta e xarope) foi calculada usando-se a fórmula:

$$\left( \frac{\text{Protopectina X } \frac{A}{100}}{\left( \text{Pectina da fruta X } \frac{A}{100} \right) + \left( \text{Pectina do xarope X } \frac{B}{100} \right)} \right)$$

A = Pêso drenado

B = Pêso líquido - pêso drenado

## LITERATURA

1. Anon. Industrial Statistics. Canner Packer, 131: (10), 142, 1962
2. BACKINGER, G.T., & KRAMER, A. Application of work measurement to the determination of fibrousness in asparagus. Food Technol., 11, (11), 583, 1957.
3. BETHUNE, J.L. & RIGBY, F.L. Determination of the oxygen content of air in beer by gas-solids chromatography. J. Inst. Brew., 65: 170, 1958.
4. DIMIK, K.P., PONTING, J.D. & MAKOWER, B. Heat inactivation of polyphenolase in fruit puree. Food Technol., 5: 237, 1951.
5. EL TABEY, A.M., & CRUESS, W.V. The oxidase of the apricot. Plant Physiol., 24, 307, 1949.

6. ESSELEN, W.B., & ANDERSON, E.E. Thermal destruction of peroxidase in vegetables at high temperatures. Food Research, 21, (3), 322, 1956.
7. FOYTIK, J. California apricot industry. Trends and Outlook. Calif. Agric. Exp. Station, Univ. of Calif., Circular 495, 1961.
8. FRANKENTHAL, R.P., CARTER, P.R., & LAUBSCHER, A.N. The mechanism of corrosion of tin plate by various food products. J. Agric. and Food Chem., 7, 441, 1959.
9. GEE, M., McCOMB, E.A., & McCREADY, R.M. A method for the characterization of pectic substances in some fruit and sugar beet marcs. Food Research, 23, (1), 72, 1958.
10. GUYER, R.B., & HOLMQUIST, J.W. Enzyme regeneration in high temperature short time sterilized canned food. Food Technol., 8, (12), 547, 1954.
11. HANDBOOK OF CHEMISTRY AND PHYSICS, 34th Edition, Chemical Rubber Publishing Co., Cleveland, Ohio, 1952-1953.
12. HOOS, J.W., LEONARD, S.J., & LUH, B.S. The effect of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid on organic acids, pectin, and quality of canned apricots. Food Research, 21, (5), 571, 1956.
13. KERTESZ, Z.A. The pectic substances. Interscience Publishers, Inc., New York, 1951.
14. KEULEMANS, A.I.M., & VERVER, C.G. Gas Chromatography. Reinhold Pub. Corp. New York, 1957.
15. KRAMER, A., & Aamlid, K. The Shear-Press, an instrument for measuring the quality of foods, III. Application to Peas. Proc. Am. Soc. Hort. Sci., 61, 417, 1953.

16. KRAMER, A. The Shear-Press, a basic tool for the food technologist. The Food Scientist, 5(1), 7, 1961.
17. KYRYACES, G., & BOORD, C.E. Separation of hydrogen, oxygen, nitrogen, methane and carbon monoxids by gas adsorption chromatography. Anal. Chem., 29, 787, 1957.
18. LABBEE, M.D., & ESSELEN, W.B. Jr. Effects of peroxidase concentration, acidity, and storage temperature on the development of off-flavors on fresh pack pickles. Food Technol., 8: 50, 1954.
19. LUH, B.S., CHAUDRY, M.S. Gas chromatography of CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, and N<sub>2</sub> in processed foods. Food Technol., 15: 52, 1961.
20. MAGNESS, J.R. & TAYLOR, G.F. An improved type of pressure tester for determination of fruit maturity. U.S.D.A., Circ. 350, 1925.
21. McCOMB, E.A. & McCREADY, R.M. Determination of acetyl in pectin and in acetylated carbohydrates polymers. Dihydroxamic acid reaction. Anal. Chem. 29: 819, 1957.
22. McCREADY, R.M. & McCOMB, E.A. Extraction and determination of total pectic materials in fruits. Anal. Chem. 24, 1986, 1952.
23. NEBESKY, E.A., ESSELEN, W.B., KAPLAN, A.M. & FELLERS, C.R. Thermal destruction and stability of peroxidase in acid foods. Food Research, 15, 114, 1950.
24. \_\_\_\_\_, & \_\_\_\_\_, & FELLERS, C.R. Studies on the peroxidase in pickles and pears. Food Technol., 5, 110, 1951.

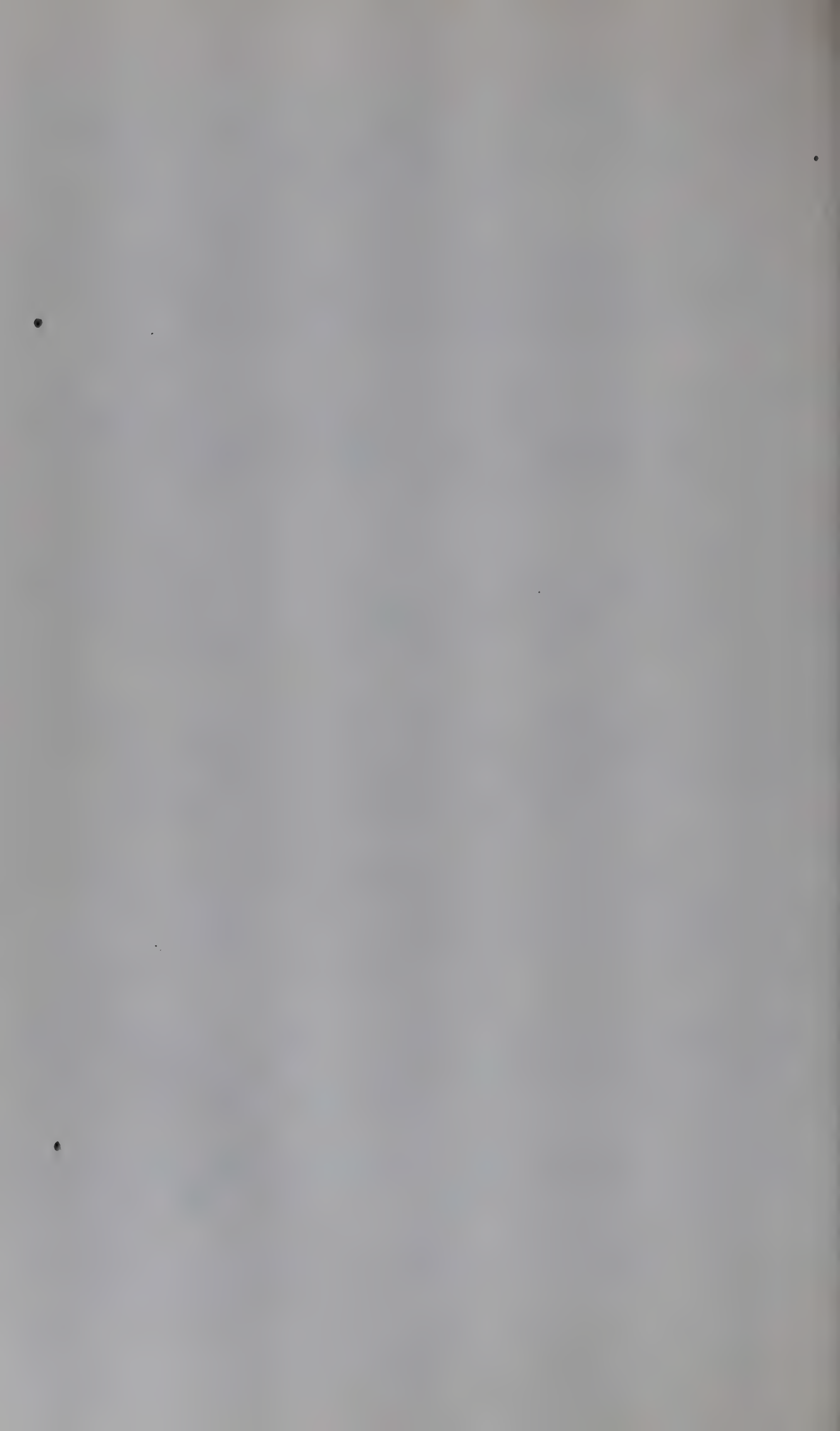


25. NEUMANN, H.J., FRAME, R., MORGAN, L., & OLSON, R.L. Use of the Kramer Shear-Press in forecasting harvest dates for Fordhook lime beans. Food Technol., 15, (5), 225, 1961.
26. PEYNAUD, S.M. Sur les Matieres pectiques des fruits. Industrial. Agri. Aliment., 68, 609, 1951.
27. PONTING, J.D., BEAN, R.S., MOTTER, G.K., & MAKOWER, B. Degree of heat-inactivation of polyphenoloxidase and quality of frozen apricot puree. Food Technol., 8, 473, 1954.
28. POSTLMAYR, H.L., LUH, B.S., & LEONARD, S.J. Characterization of pectin changes in Freestone and Clingstone peaches during ripening and processing. Food Technol., 10, (12), 618, 1956.
29. POWERS, M.J., TAYLOR, D.H., TALBURT, W.F., & WALKER, L.H. Dehydrofrozen apricots. Preparation. Food Technol., 10, 489, 1956.
30. RAY, N.H. Gas chromatography. II. The separation and analysis of gas mixtures by gas chromatographic methods. J. Appl. Chem., 4, 82, 1954.
31. REDDI, R.R., ESSELEN, W.B. Jr., & FELLERS, C.B. Peroxidase activity in apple tissue. Food Technol., 4, 63, 1949.
32. REYES, P., & LUH, B.S. Characteristics of browning enzymes in Fay Elberta Freestone peaches. Food Technol., 14, 570, 1960.
33. SAMISH, R., & CRUESS, W.V. Enzymatic darkening in apricots. Proc. Am. Soc. Hort. Sci., 31, 28, 1934.
34. SCHWIMMER, S. Regeneration of heat inactivated peroxidase. J. Biol. Chem., 154, 487, 1944.

35. SHANON, W.G., MARION, W.W., & STADELMAN, W.J. Effect of temperature and time of scalding on the tenderness of breast meat of chicken. Food Technol., 11, (5), 284, 1957.
36. SISTRUNK, W.A., & CAIN, R.F. Chemical and physical changes in green beans during preparation and processing. Food Technol., 14, (7), 357, 1960.
37. SMITH, N., SWINEHART, J., & LESNINI, D.G. Chromatographic analysis of gas mixtures containing nitrogen, nitrous oxide, nitric oxide, carbon monoxide and carbon dioxide. Anal. Chem., 30, 1217, 1958.
38. STADELMAN, W.J., & WISE, R.G. Tenderness of poultry meat. I. Effect of anesthesia, cooking and irradiation. Food Technol., 15, (6), 292, 1961.
39. STAHL, W.H., WOEKKER, W.A., & SULLIVAN, J.H. A gas chromatographic method for determining gases in the head space of cans and flexible packages. Food Technol., 14, 14, 1960.
40. STRACHAN, C.C., MOYLS, A.W., & ATKINSON, F.E. Nutritive value of British Columbia tree fruits. Can. Dept. Agr., Exptl. Farms Service Publ. No. 862, 23, 1951.
41. TWIGG, B.A. New Shear-Press method for measuring quality of raw and canned sweet corn. Canning Trade, 85, (19), 1963.
42. UNITED STATES STANDARDS FOR GRADES OF CANNED APRICOTS. U.S.D.A., 1962.
43. U.S.D.A. A guide to pork quality. Agric. Research September, 1959.

44. VAN DE CPAATS, F. Application of vapor-phase chromatography in the gas-analytical field. Anal. Chem. Acta, 14, 136, 1956.
45. VETTER, J.B., NELSON, A.Y., STEINBERG, M.P. Heat inactivation of sweet corn peroxidase in the temperature range of 210°F to 310°F. Food Technol., 12, (5), 244, 1958.
46. VOSTI, D.C., HERNANDEZ, H.H., & STRAND, J.B. Analysis of head space gases in canned foods by gas chromatography. Food Technol., 15, 29, 1961.
47. YANKOV, S.J. Active and locale of polyphenoloxidase in some fruits. Compt. Rend. Acad. Bulgare Sci., 14, 455, 1961.





APLICAÇÃO DA EQUAÇÃO DE HENDERSON EM ESTUDOS DE  
UMIDADE DE EQUILÍBRIO EM CAFÉ EM CÔCO,  
DESPOLPADO E BENEFICIADO

Décio Travaglini  
Yara Tosello

RESUMO

*Verificou-se a possibilidade da aplicação da equação de Henderson em determinações de rotina da umidade de equilíbrio do café nas formas "côco", "beneficiado" e "despolpado".*

*Os resultados obtidos mostraram que em aplicações de ordem prática, os valores de umidade de equilíbrio para café "beneficiado" e "despolpado" podem ser utilizados com boa precisão. Para os valores obtidos com café em "côco", concluiu-se que a sua reprodutibilidade é apenas regular.*

SUMMARY

APPLICATION OF THE HENDERSON EQUATION TO STUDIES OF MOISTURE EQUILIBRIA IN DRIED FRUIT, PULPED COFFEE, AND HULLED COFFEE. *The present work was undertaken to study the applicability of the mathematical treatment of Henderson to routine determinations of the relative humidity - moisture isotherms for dried coffee in three commonly handled forms: dried fruit, pulped coffee, and hulled coffee.*

*It was found that for practical purposes the results obtained for pulped coffee and hulled coffee may be used with good accuracy. The results obtained for the dried fruit were considered regular.*

## INTRODUÇÃO

É de considerável importância o conhecimento da umidade de equilíbrio de materiais higroscópicos, entre os quais se incluem os produtos agrícolas, por causa da sua direta relação com problemas de armazenamento e secagem. Tal umidade, que representa o equilíbrio entre as pressões parciais do vapor de água do material e do ar que o circunda, tem sido assunto de estudos de inúmeros pesquisadores. Dentre estes, Henderson (3), com base em considerações termodinâmicas, derivou a seguinte equação:

$$(1 - \sigma) = e^{-kTM^n}$$

em que  $\sigma$  é a umidade relativa do ambiente, expressa em fração decimal; T, a temperatura em graus Rankine; M, a umidade de equilíbrio (em porcentagem na base seca); k e n, constantes, que variam com o material sendo estudado.

Com base em estudos preliminares por Tosello (5), procurou-se desenvolver um trabalho com a finalidade de obter dados de umidade de equilíbrio para o café, nas três formas principais com que é manuseado, isto é, café em côco, café despulpado e café beneficiado; verificar a aplicabilidade da equação de Henderson, por meio da determinação das constantes k e n para cada um dos referidos materiais e, finalmente, construir tabelas que dessem diretamente os valores de umidade de equilíbrio para o café, nas três formas antes mencionadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado no ensaio era constituído de café da variedade Mundo Novo, proveniente da Estação Experimental "Theodoreto de Camargo", em Campinas.



Após preparo, retiraram-se, em laboratório, de cada lote de café, amostras para determinação da umidade em estufa, a 105-110°C e durante 24 horas, segundo a AOAC (1).

Em seguida, cada uma das 10 amostras de cada tipo de café, pesando aproximadamente 100 gramas, com precisão na pesagem até a quarta casa, foi colocada em dissecador individual, com ambiente de umidade relativa controlada por meio de solução de ácido sulfúrico, de modo a se obter ambientes que diferissem entre si de 10% de umidade.

Cada lote era constituído, portanto, de 10 amostras com a mesma umidade no início do ensaio, e cada amostra, com peso determinado, foi colocada em ambiente de umidade relativa, previamente estabelecida.

A seguir, as amostras foram pesadas regularmente, a cada três dias, até se obter peso constante.

O ensaio foi levado a efeito em ambiente de laboratório, considerando-se, para efeito de cálculo, uma temperatura média ambiente de 25°C.

## RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de umidade de equilíbrio, para cada ambiente de umidade relativa estudado e para café em côco, despulpado e beneficiado, em peso úmido e peso seco calculado, em porcentagem, estão indicados no Quadro 1.

A equação de Henderson é a seguinte:

$$1 - \sigma = e^{-kTM^n}$$

Quadro 1. Valores de umidade de equilíbrio dos vários tipos de café em porcentagem de peso úmido e seco, à temperatura de 25°C.

Amostra	Umidade relativa do ar  %	UMIDADE DE EQUILÍBRIO					
		Café em côco		Café despolpado		Café beneficiado	
		Pêso úmido	Pêso seco	Pêso úmido	Pêso seco	Pêso úmido	Pêso seco
1	10	8,61	9,42	3,36	3,48	3,98	4,14
2	20	9,18	10,10	4,80	5,04	5,14	5,42
3	30	10,00	11,11	6,00	6,30	6,39	6,83
4	40	10,00	12,23	7,30	7,87	7,48	8,08
5	50	12,64	14,43	9,03	9,93	9,07	9,97
6	60	14,14	16,46	10,94	12,28	10,60	11,86
7	70	17,25	20,84	12,57	14,38	12,04	14,69
8	80	20,50	25,78	14,97	17,80	14,81	17,38
9	90	30,00	42,85	18,83	23,20	17,90	21,80

em que

$\sigma$  = umidade relativa do ar.

T = temperatura do ar ambiente do laboratório onde se realizou a experiência, em graus Farenheit absoluto.

M = umidade dos grãos em porcentagem sobre o peso seco.

k = constante a ser determinada.

n = constante a ser determinada.

Usando-se logarítimos, essa equação passa a ser linear, de modo que a sua aplicação ao problema, se reduz a uma estimativa de A e B na regressão linear: (Murray, 1961) (4).

$$Y = A + BX$$

Tem-se, então:

$$\log_e \log_e (1 - \sigma) = \log_e - k + \log_e T + N \log M$$

$$\text{Fazendo-se } \log_e M = X$$

$$\log_e \log_e (1 - \sigma) = Y$$

$$\text{Tem-se } A = \log_e - k + \log_e T$$

$$B = N$$

Aplicou-se a equação dos dados correspondentes às amostras de 1 a 9, desconsiderando-se aqueles da amostra 10, visto que influíram negativamente na análise. O cálculo da correlação apresentou os seguintes valores:



Correlação p/ café beneficiado .....	0,98
Correlação p/ café despulpado .....	0,99
Correlação p/ café em côco .....	0,96

Aplicando-se o método dos mínimos quadrados, foram determinadas as constantes para cada caso, com os seguintes resultados:

#### Café despulpado

$$A = 4.115$$

$$B = 1.60$$

$$\text{portanto, } n = 1,6 \text{ e } k = 2,7 \times 10^{-5}$$

#### Café beneficiado

$$n = 1,82 \text{ e } k = 1,7 \times 10^{-5}$$

### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A equação de Henderson parece se aplicar muito bem para o café despulpado e café beneficiado. Os resultados de coeficientes de correlação encontrados para estes produtos atestam a eficiência da equação proposta por Henderson (3) para previsão de resultados.

No caso de café em côco, os resultados foram considerados apenas regulares, o que era de se esperar uma vez que se trata de material morfológicamente heterogêneo, para o qual a equação de Henderson não se aplicaria com precisão.

As Figuras 1 e 2 mostram as curvas obtidas através da experimentação em laboratório e aquela através de equação de Henderson (3). O pequeno desvio apresentado entre a curva teórica e a experimental, em cada figura, pode ser explicado pelo fato de que a determinação do ponto exato de umidade de equilíbrio durante o ensaio de laboratório é de difícil precisão.

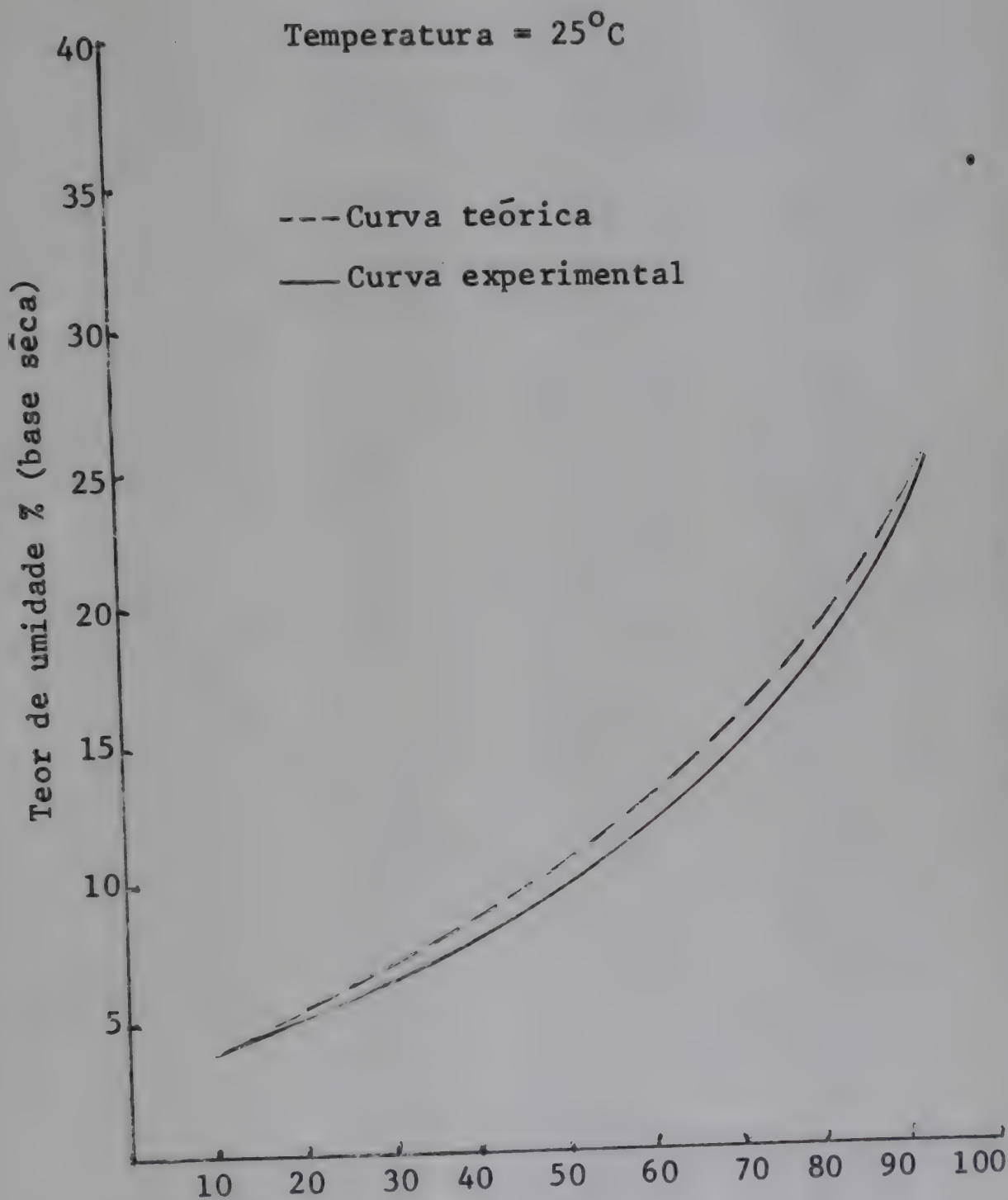


Figura 1. Curvas teórica e experimental obtidas para café despulpado.

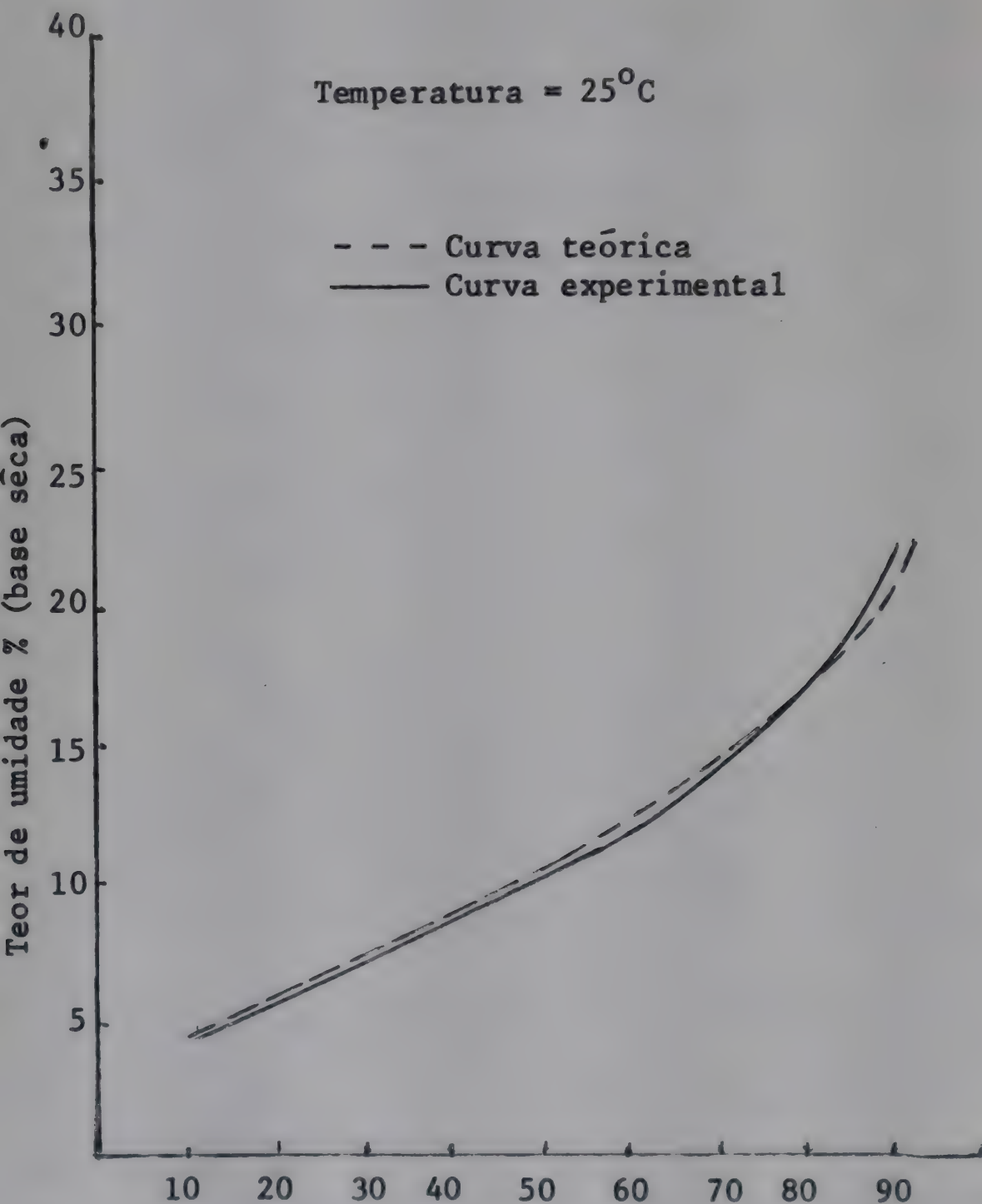


Figura 2. Curva teórica e experimental obtida para café beneficiado.



Visto que os resultados foram considerados muito bons para os produtos café "despolpado" e "beneficiado", construíram-se, então, tabelas, as quais constam dêste trabalho (Tabelas 1 e 2), e que possibilitam a obtenção de valores de umidade de equilíbrio em função da umidade relativa e temperatura ambiente.

Tabela 1. Valores de M para Café Despolpado em função da umidade relativa e de temperatura do ambiente.

T/ σ	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50	0,55	0,60	0,65	0,70	0,75	0,80	0,85	0,90
15° C	5,64	6,61	7,60	8,51	9,50	10,44	11,45	12,51	13,64	14,85	16,20	17,70	19,40	21,50	24,26
20° C	5,60	6,54	7,50	8,42	9,40	10,33	11,33	12,40	13,50	14,70	16,00	17,50	19,20	21,30	24,00
25° C	5,52	6,50	7,40	8,33	9,30	10,22	11,21	12,15	13,35	14,53	15,83	17,30	19,00	21,04	23,75
30° C	5,50	6,40	7,32	8,24	9,20	10,11	11,09	12,12	13,21	14,40	15,70	17,11	18,80	20,82	23,50
35° C	5,41	6,34	7,25	8,20	9,07	10,01	11,00	12,00	13,08	14,24	15,51	17,94	18,70	20,61	23,30

Tabela 2 Valores de M para Café beneficiado em função da umidade relativa e da temperatura do ambiente.

T/°C	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50	0,55	0,60	0,65	0,70	0,75	0,80	0,85	0,90
15° C	5,90	6,80	7,63	8,50	9,30	10,14	11,00	11,90	12,82	13,82	14,90	16,10	17,50	19,13	21,30
20° C	5,84	6,72	7,60	8,40	9,21	10,04	10,90	11,80	12,70	13,70	14,80	15,95	17,31	18,95	21,10
25° C	5,80	6,70	7,50	8,31	9,13	9,95	10,80	11,70	12,60	13,60	14,62	15,80	17,15	18,80	20,90
30° C	5,73	6,60	7,42	8,23	9,04	9,90	10,70	11,60	12,50	13,44	14,50	15,65	17,00	18,60	20,70
35° C	5,70	6,54	7,40	8,20	9,00	9,80	10,60	11,50	12,40	13,32	14,40	15,51	16,84	18,45	20,50

## LITERATURA

1. AOAC. Official and Tentative Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, 10th, ed., Washington, DC., 1965.
2. FRANCO, C.M. Estudo sôbre a conservação de sementes. I. Respiração de Sementes de Algodão em Diversas Umidades Relativas. *Bragantia* 3: 1943.
3. HENDERSON, S.M. A Basic Concept of Equilibrium Moisture. *Agricultural Engineering* 33: 29-32, 1952.
4. MURRAY, R.S. Theory and Problems of Statistics. Schaum Publishing Co., New York, p. 1982, 1961.
5. TOSELLO, A. Relatório do Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo, 1952 (não publicado).





## DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZÍMICA DA ALFA E BETA AMÍLASE DURANTE A MATURAÇÃO DA BANANA

Maria Izabel Giazzi  
Ruth Musche

### RESUMO

*Foi executado um estudo visando determinar a atividade de diferentes enzimas em frutos de banana-nanica (Musa Cavendish Lamb.), a variedade mais comum no Brasil.*

*As atividades da  $\alpha$ -amílase (alfa-1,4 glican 4-glicanidrólase) e  $\beta$ -amílase (alfa-1,4 glican maltohidrólase) foram determinadas nos períodos pré-climatérico, climatérico e pós-climatérico da fruta). As análises demonstraram que a atividade da  $\alpha$ -amílase acompanhou a elevação do pH.*

*Depois de um primeiro máximo, a atividade da  $\alpha$ -amílase diminuiu e tornou-se a elevar depois de alguns dias. Essa segunda elevação de atividade da  $\alpha$ -amílase foi acompanhada de um aumento de atividade da  $\beta$ -amílase. A atividade máxima da  $\beta$ -amílase coincidiu como o estágio de maturação considerado ótimo do ponto-de-vista do consumidor. O máximo de atividade da invertase ocorreu no período pós-climatérico.*

### SUMMARY

ENZYME ACTIVITY DURING FRUIT RIPENING AND AMYLASE IN THE BANANA-NANICA (Musa Cavendish Lam.). Special attention was devoted to the enzyme activity related to the metabolism of carbohydrates during the ripening process in the banana nanica (Musa Cavendish Lamb.), which is the most common in Brazil.

Enzymes under investigation were  $\alpha$  and  $\beta$ -amylases. The activity of  $\alpha$ -amylase (alpha 1,4 glucan 4 glucanohidrolases) and  $\beta$ -amylase (alpha 1,4 glucan maltohidrolase) were determined in the climateric, during the climateric rise and in the post climateric period of the fruit. The analysis showed that the activity of  $\alpha$ -amylase reached the maximum at the climateric rise. After that, it diminishes and rises again after some days, reaching a second maximum. The change in pH always followed the change in  $\alpha$ -amylase activity. The second rise in activity of  $\alpha$ -amylase coincided with the beginning of the rise in activity of  $\beta$ -amylase. The activity of  $\beta$ -amylase had its maximum at the point when the fruit presented its optimum stage of ripening.

## INTRODUÇÃO

Ao se processar os vários produtos da banana, há necessidade de ser feito um estudo detalhado dos fenômenos bioquímicos que ocorrem durante a maturação do fruto, a fim de determinar o estágio ideal para início do processamento.

A composição dos nutrientes da banana-nanica (*Musa Cavendish Lamb.*), que é a variedade mais comum no Brasil, já foi anteriormente determinada no C.T.P.T.A. (3). Foi repetida para ilustrar o efeito dos ênzimos sobre os componentes nutrientes do fruto durante o processo de maturação.

Recentemente, atenção especial foi dirigida à atividade enzimica relacionada com o metabolismo dos carboidratos, principalmente sobre aquela da  $\alpha$  e  $\beta$ -amílases.



## MATERIAL E MÉTODO

A determinação foi iniciada em bananas de cacho recém-colhido (1 dia), armazenado à temperatura ambiente, apresentando-se as frutas com casca verde-escuro e polpa dura. Estas foram cortadas e as análises imediatamente realizadas foram:

a) Determinação dos carboidratos: amido, açúcares totais, açúcares redutores e sacarose, determinados de acordo com os métodos da A.O.A.C. (1).

b) Determinação da atividade enzimica:

1) A atividade da  $\alpha$ -amílase foi determinada de acordo com o método dextrinogênico, baseado na perda de coloração de iodo a 40° e pH 5,3 durante 30 minutos, por reação com o amido, segundo modificação do método de Wohlgemuth.

2) A atividade da  $\beta$ -amílase foi determinada pela produção de açúcares redutores durante 30 minutos, em pH 5,3 e à temperatura de 25°C. A determinação de açúcares redutores foi feita de acordo com o método de Lane-Eynon (1).

As unidades de  $\alpha$  e  $\beta$ -amílases foram obtidas pelas seguintes equações:

$$1 \text{ unidade } \alpha\text{-amílase} = \frac{\text{hidrólise de 1 g de amido}}{1 \text{ g de amostra} \cdot 1 \text{ minuto}}$$

$$1 \text{ unidade } \beta\text{-amílase} = \frac{1 \text{ g de substância redutora}}{1 \text{ g de amostra} \cdot 1 \text{ minuto}}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um estudo preliminar foi feito para determinar a localização do tanino, da região ácido-alcalina e do amido, em frutas verdes e maduras. Para isso, cortes

transversais dos frutos foram tratados com solução de cloreto férrico (para tanino), solução de iôdo (para amido) e bromofenol (para a região ácido-alcalina). O tanino se localizou na casca e no tecido central, enquanto que o amido, em reservatórios localizados na polpa. Durante a maturação, ambas as substâncias quase que desapareceram. Os tecidos que tinham tanino, ficaram mais ácidos do que os reservatórios contendo amido. A região entre a casca e a polpa, apresentou reação nitidamente alcalina.

Quadro 1. Atividade da  $\alpha$ -amílase,  $\beta$ -amílase, invertase, pH e concentração de carboidratos durante a maturação de banana-nanica.

Dias de matura- ção	pH	Amílase (unida- des)	Carboidratos				Amido (de- grada- ção)
			Amido	Açúc. totais	Saca- rose	Açúc. redu- tores	
0		210					
3	5,2		23,6	0,4	0,22	0,18	
4	5,2	210	23,4	0,64	0,34	0,3	0,84
5		289					
6		308					
7	5,4		20,4	1,0	0,56	0,45	13,53
8		386					
9	4,6	249	9,2	12,2	4,4	7,8	61,02
10		217					
13		279 833					
14	5,0	327 1452	1,5	16,8	7,4	9,4	93,06
15		301 1552					
18		236 1442	0.48	16,8	8,84	8,0	97,9
19	4,4	216 989					

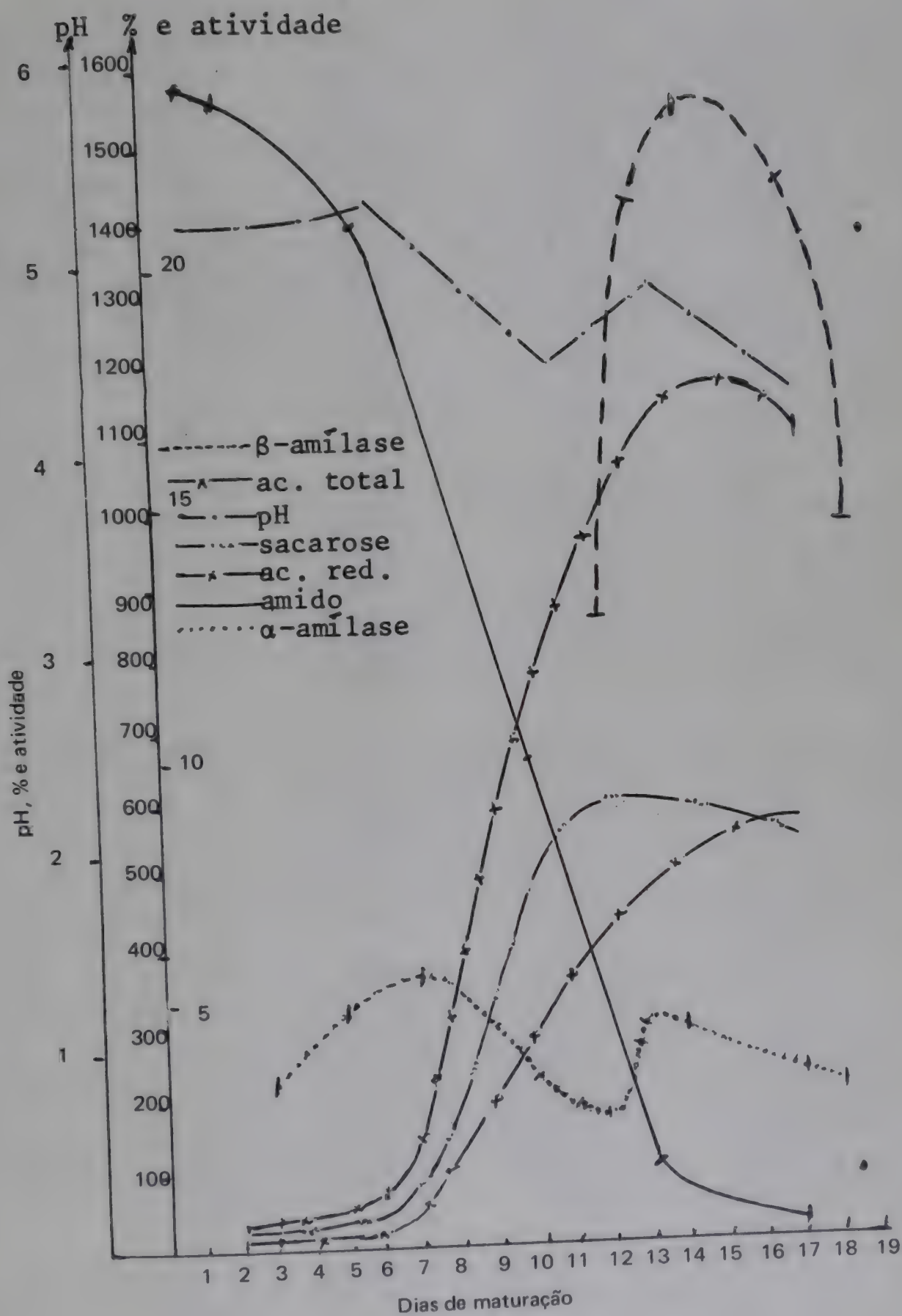


Figura 1.



As atividades da  $\alpha$  e  $\beta$ -amílases, o pH e a composição dos carboidratos durante o processo de maturação, poderão ser vistos no Quadro 1 e Figura 2. O Quadro 1 e a Figura 2, mostram que o climatérico se inicia no 7º dia após a colheita da fruta. Esse período é caracterizado por hidrólise mais rápida do amido e aceleração na formação de açúcares solúveis totais, sacarose e açúcar redutor. No climatérico, observa-se um aumento do pH (5,2 - 5,4), com um máximo no segundo dia. As análises revelaram que a atividade da  $\alpha$ -amílase está relacionada com as variações do pH, aumentando lentamente no período pré-climatérico e atingindo um máximo no segundo dia do climatérico.

No 13º dia de armazenamento, observou-se uma segunda elevação da atividade dos enzimas. Houve um aumento do pH (4,6 - 5,10), simultaneamente com a atividade da  $\alpha$ -amílase. Contudo, este período foi essencialmente caracterizado pela atividade da  $\beta$ -amílase. O valor mais alto da sua atividade ocorreu um dia depois daquele obtido para a  $\alpha$ -amílase.

A determinação da atividade enzimica da banana-nanica, durante o processo da maturação, foi realizada em três diferentes regiões da polpa (a, b, c). Os resultados das determinações mostraram que durante a maturação, a extremidade oposta ao pedúnculo apresentava maior atividade do que as outras regiões da fruta.

Em relação ao metabolismo, as variações da atividade de  $\alpha$ -amílase podem ser relacionadas pela mudança do ciclo energético da respiração, durante o climatérico, conforme demonstrou Tager (5), ao afirmar que, no período pré-climatérico o ciclo pentose é o ciclo energético da respiração. Tager expôs, ainda, que durante o climatérico o metabolismo apresenta modificações nas hexoses.

De acordo com Shang e outros (4), a respiração aumenta no climatérico e atinge um máximo depois de um período de 4 a 5 dias; logo após, há uma mudança na cor da casca, que passa de verde para verde-amarelado.

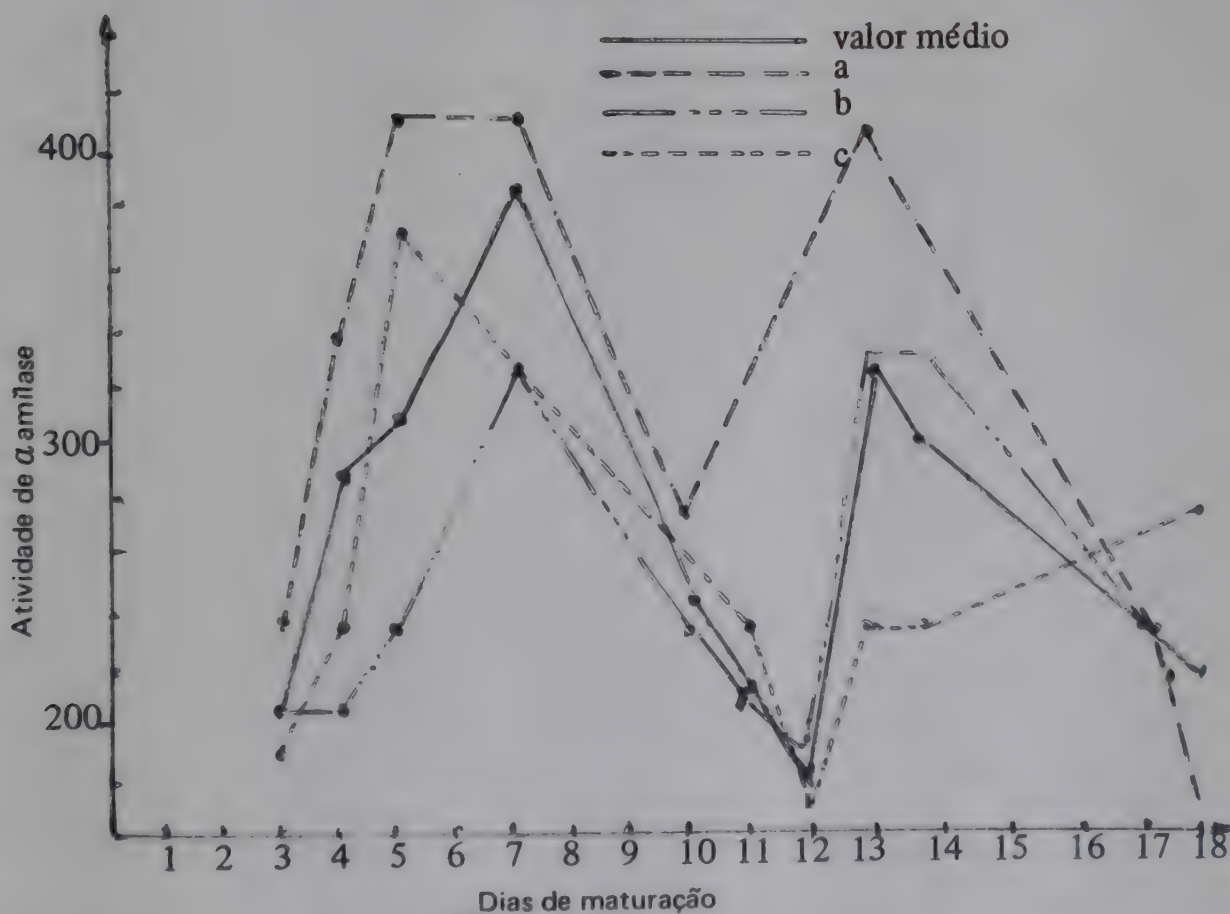
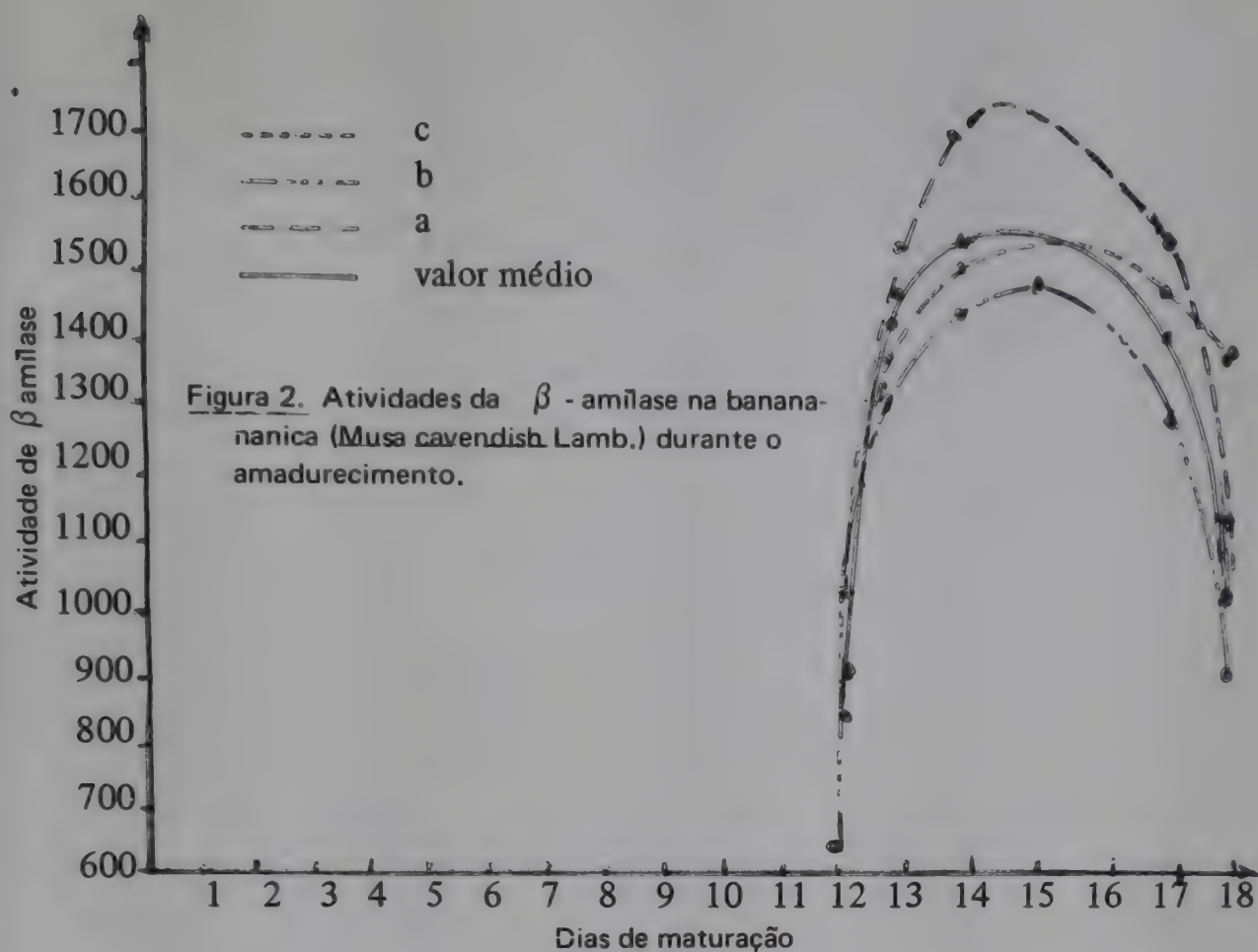


Figura 3. Atividade da  $\alpha$  amilase na banana-nanica (*Musa cavendish* Lamb.) durante o amadurecimento.

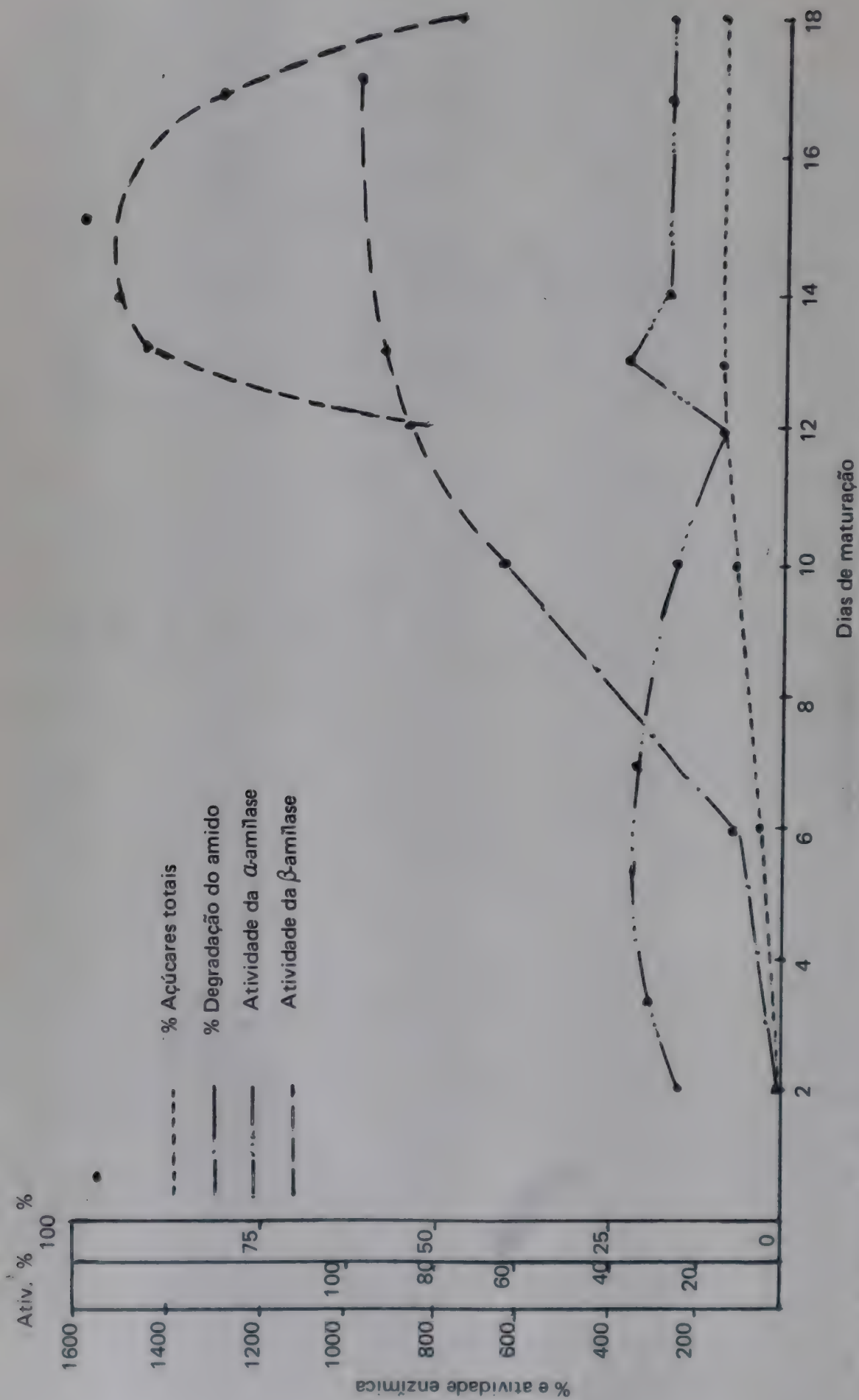


Figura 4. Comparação do climatérico com os máximos da atividade de  $\alpha$  e  $\beta$  amilase e degradação do amido.



A comparação entre os dados da literatura e o presente trabalho, demonstram que as atividades da  $\alpha$  e  $\beta$ -amílases estão relacionadas à intensidade da respiração. O aumento de suas atividades é seguido pela intensificação da respiração.

O esquema de Biale (2) e os resultados deste trabalho (Fig. 4), demonstram que o período principal da degradação do amido ocorre durante a intensificação da respiração.

Shang e outros (4) demonstraram que ao lado da  $\alpha$ -amílase, outros enzimas, provavelmente a fosforilase, atuam na degradação do amido. Isto ficou evidenciado ao se comparar a atividade enzimica e a degradação do amido, determinadas neste trabalho.

A atividade da  $\alpha$ -amílase é responsável pela dextrinização do amido, que aumenta ligeiramente antes do processo de maturação, e a da  $\beta$ -amílase pela sacarificação do amido, que atinge seu máximo quando a fruta alcança o ponto exato da maturação.

O processamento deverá ser feito antes que as atividades enzimicas atinjam o ponto máximo.



AMINOÁCIDOS DA POLPA DA BANANA-NANICA (*MUSA CAVENDISHII*) E BANANA-MAÇÃ (*MUSA SAPIENTUM*) \*

V.C. Sgarbieri

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi o de estudar os aminoácidos que ocorrem em estado livre e nas proteínas presentes na polpa da banana madura (variedades nanica e maçã).

Cêrca de 16 aminoácidos foram identificados para a variedade nanica na fração solúvel, enquanto que para a variedade maçã apenas 14 foram reconhecidos, isto é, não se verificou a presença de tirosina e ácido piperólico. Os aminoácidos que predominam na fração solúvel em álcool 70%, são os mesmos para as duas variedades, isto é, leucina, valina, ácido-amino-butírico, histidina, arginina e treonina.

Aparecem cêrca de 14 aminoácidos na composição das proteínas de ambas as variedades, sendo que predominam, tanto em uma, como na outra, leucina, valina, alanina, treonina, ácido aspártico e serina.

## SUMMARY

AMINO ACIDS IN THE PULP OF "BANANA-NANICA" (*Musa cavendishii* Lamb.) AND "BANANA-MAÇÃ" (*Musa sapientum* L.). In the present work the author isolated and identified the free amino acids and the ones present in the protein of two varieties of edible bananas grown in Brazil.

Sixteen amino acids were found free in the 70% ethanol soluble fraction of banana "nanica" pulp and twelve to fourteen in the pulp of banana "maçã". In this variety it was not detected the amino acids tyrosine and piperolic acid.



*The prevailing amino acids in the ethanol soluble fraction of the two varieties were leucine, valine,  $\gamma$ -amino butyric acid, histidine, arginine and threonine.*

*About fourteen amino acids were found in the protein hydrolyzate of both varieties predominating leucine, valine, alanine, threonine aspartic acid serine.*

## INTRODUÇÃO

Igualmente como um grande número de outras frutas tropicais, a banana é muito mal conhecida quimicamente, apesar de existir na literatura científica, se bem que antiga, um volume razoável de citações e outras tantas investigações sobre vitaminas, carboidratos, taninos e outros elementos dessa fruta.

Além de não serem recentes, essas citações não oferecem, muitas vezes, segurança quanto aos dados apresentados, pois, comumente, elas não são completadas com uma perfeita identificação do material em estudo, em relação à origem, espécie, variedade, etc.

Muito menos frequentes, entretanto, têm sido as pesquisas sobre as substâncias nitrogenadas da banana, provavelmente por não se apresentarem esses componentes em elevadas concentrações.

Sem dúvida alguma, dos componentes nitrogenados dos alimentos, os aminoácidos são os mais importantes, quer na forma livre ou na protéica.

O interesse pelo estudo dos aminoácidos e das proteínas da banana surgiu graças a um projeto que se vem desenvolvendo no Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, para a industrialização e melhor aproveitamento de nossas bananas como alimento.

Hulme (2) investigou os compostos nitrogenados da banana Gros Michel (*Musa acuminata*) tan-

to na fração solúvel em álcool 10%, como no hidrolisado da fração insolúvel.

Após uma purificação preliminar do extrato alcoólico em resinas de troca iônica, fêz-se a identificação dos aminoácidos por cromatografia de papel. Cerca de 17 aminoácidos foram separados, sendo que a histidina apareceu em quantidades não usuais para um extrato de planta. De acordo com o mesmo autor, entretanto, a histidina aparece em quantidades muito pequenas no hidrolisado de fração insolúvel, sendo a lisina, o aminoácido básico que apareceu em maior concentração na proteína.

Bhagavan e Rajagopalan (1) estudaram os aminoácidos dos hidrolisados de três variedades de banana cultivadas na Índia, pertencentes às espécies *Musa cavendishii* Lamb, *Musa sapientum* Linn, e *Musa balbisiana* Colla. Na separação dos aminoácidos, foi empregada a técnica de cromatografia circular em papel.

A composição em aminoácidos dos hidrolisados dessas espécies, foi comparada àquela da caseína, dada por Mitchell (3).

## MATERIAIS E MÉTODOS

As bananas-nanica utilizadas neste estudo eram originárias do litoral do Estado de São Paulo, enquanto que as bananas-maçã provinham do Estado de Goiás.

Ambas as espécies foram colhidas no estágio de desenvolvimento a que se convencionou chamar 3/4. Os frutos foram transportados para Campinas e amadurecidos em câmara fechada, em atmosfera com 0,10% de gás acetileno.

Uma amostra representativa de cada espécie foi levada ao laboratório, quando as bananas estavam maduras, descascadas e trituradas em liquidificador. Pesaram-se 20 g da polpa em copo de 400 ml, adicionaram-se 100 ml de etanol 75%, agitando-se, mecânicamen-



te, à temperatura ambiente durante uma hora. Em seguida, agitou-se o material em banho-maria a 60°C, durante 40 a 60 minutos, centrifugando-o a 5.000 r.p.m. durante 15 minutos e lavando-se o precipitado duas e três vezes em etanol 70%.

Os sobrenadantes das diversas centrifugações foram misturados e o volume completado a 250 ml. O extrato alcoólico assim preparado contém tôdas as substâncias solúveis da polpa, inclusive os aminoácidos.

Pipetaram-se 50 ml do extrato e passou-se através de uma coluna de Dowex 50 W - X<sub>4</sub>, de 1,0 x 20 cm. Lavou-se com 50 ml de água destilada e, em seguida, os aminoácidos na coluna foram deslocados com 50 ml de uma solução de NH<sub>4</sub>OH 3N. Evaporou-se completamente a amônia em banho-maria a 60°C. O resíduo da evaporação contém os aminoácidos que foram redissolvidos em 5,0 ml de uma solução a 10% de isopropanol. O extrato alcoólico assim preparado, guardado em refrigerador, conserva-se por muito tempo.

Os aminoácidos da fração protéica foram obtidos da seguinte forma: a parte da polpa insolúvel em álcool 70%, foi transferida para um balão e aquecida a refluxo, durante cerca de 20 horas, com HCl 6N. Com êsse tratamento, tôdas as proteínas e os carboidratos sofrem hidrólise, libertando-se, assim, os aminoácidos.

O hidrolisado é, em seguida, evaporado repetidas vezes com etanol absoluto, para que haja eliminação completa do HCl. Após evaporação completa, redissolveu-se o resíduo em etanol 70% e completou-se o volume a 50 ml.

Os aminoácidos contidos nos 50 ml foram isolados por cromatografia de coluna, exatamente como no caso dos aminoácidos livres, contidos na fração solúvel em álcool 70%, já descritos anteriormente.



## Cromatografia de papel

Usou-se papel de filtro Whatmann nº 1 e cromatografia ascendente bidimensional. De 20 a 50 ml do extrato foram aplicados no papel por meio de micropipetas, secando-se imediatamente a mancha no ponto de aplicação, com o auxílio de um secador "Spam-Jet". Os cromatogramas foram desenvolvidos na primeira direção, inicialmente em fenol-água (80:20) ou fenol-água-amônia (80:20:1), contendo 0,04% de 8-hidroxiquinoleína. Em segunda dimensão, os cromatogramas foram desenvolvidos em n-butanol-ácido acético-água, na proporção (40:10:10). Tentou-se, ainda, uma terceira dimensão com etanol-ácido acético (19:1), contra o fenol, com a finalidade de separar metionina/valina, leucina/iso-leucina.

Uma vez desenvolvidos, os cromatogramas foram secados em capela à temperatura ambiente, com leve corrente de ar.

A detecção e identificação das manchas foram feitas usando-se ninidrina e isatina, como reagentes, e aminoácidos puros, como padrões.

As soluções de ninidrina foram preparadas na concentração de 0,2% de etanol 95%, e de isatina foi preparada na concentração de 0,2% em n-butanol, contendo 4% de ácido acético.

Depois de pulverizado com os reagentes, os cromatogramas foram aquecidos em estufa a 65°C, no caso da ninidrina, e a 100°C, para a isatina, durante 20-30 minutos.

## RESULTADOS EXPERIMENTAIS

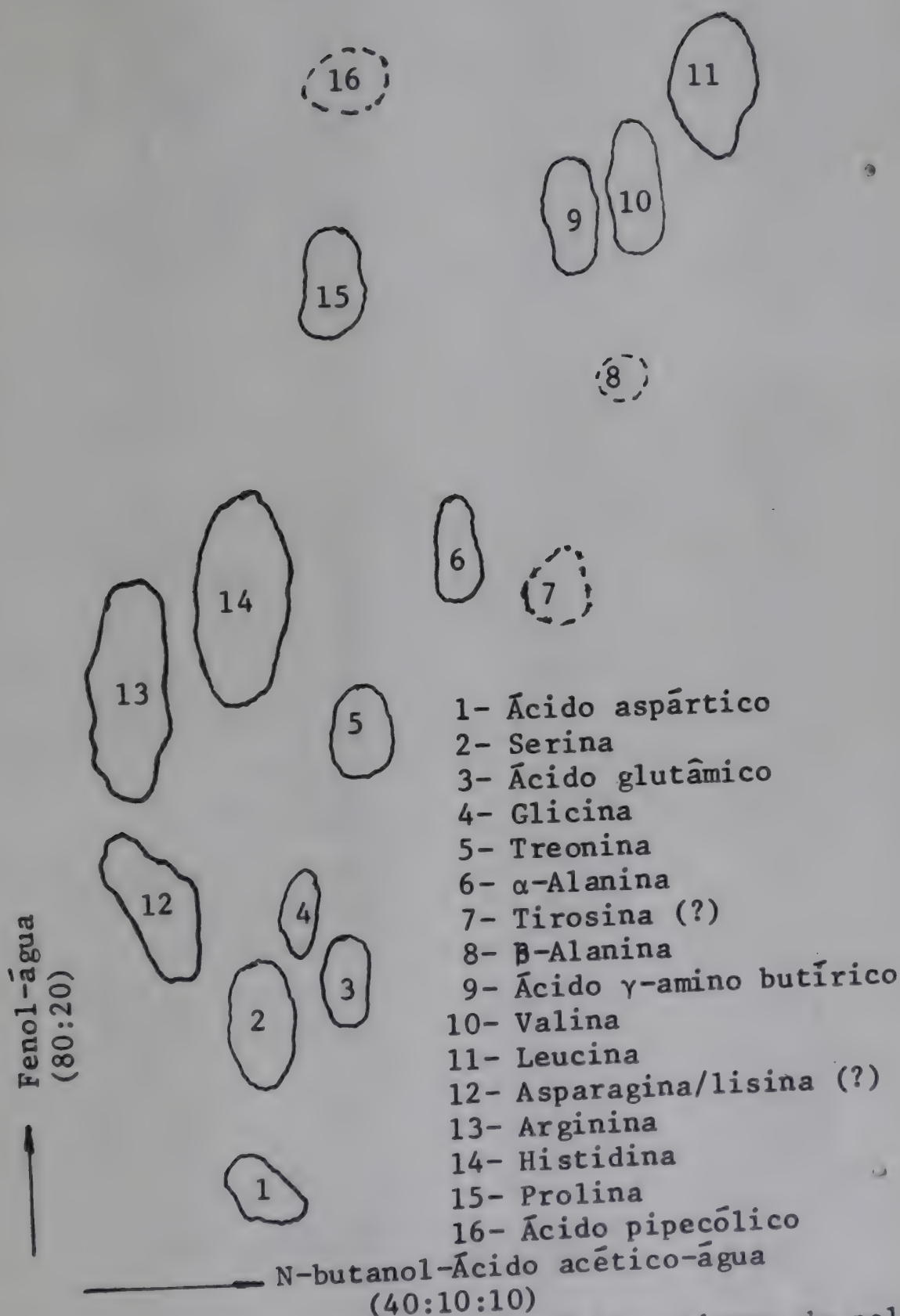
Os diversos aminoácidos presentes na fração solúvel em álcool 70% e nas proteínas da polpa da banana-nanica madura, foram separados cromatograficamente e identificados. O número e a proporção relativa desses aminoácidos, poderão ser analisadas no Quadro 1.

Quadro 1. Aminoácidos encontrados na polpa da banana-nanica.

Aminoácidos	Livres	Protéico
•Ácido aspártico	++ (*)	+++
Ácido glutâmico	++	+++
Serina	++	++
Glicina	+	++
Asparina	+	—
Treonina	++	++
Alfa-alanina	+	+++
Beta-alanina	traços	—
Histidina	+++	+
Lisina	+	+
Arginina	++	+
Prolina	+	++
Valina	+++	+++
Leucina	+++	+++
Tirosina	traços	+ (?)
Ácido amino-butírico	+++	—
Ácido piperídico	+	—

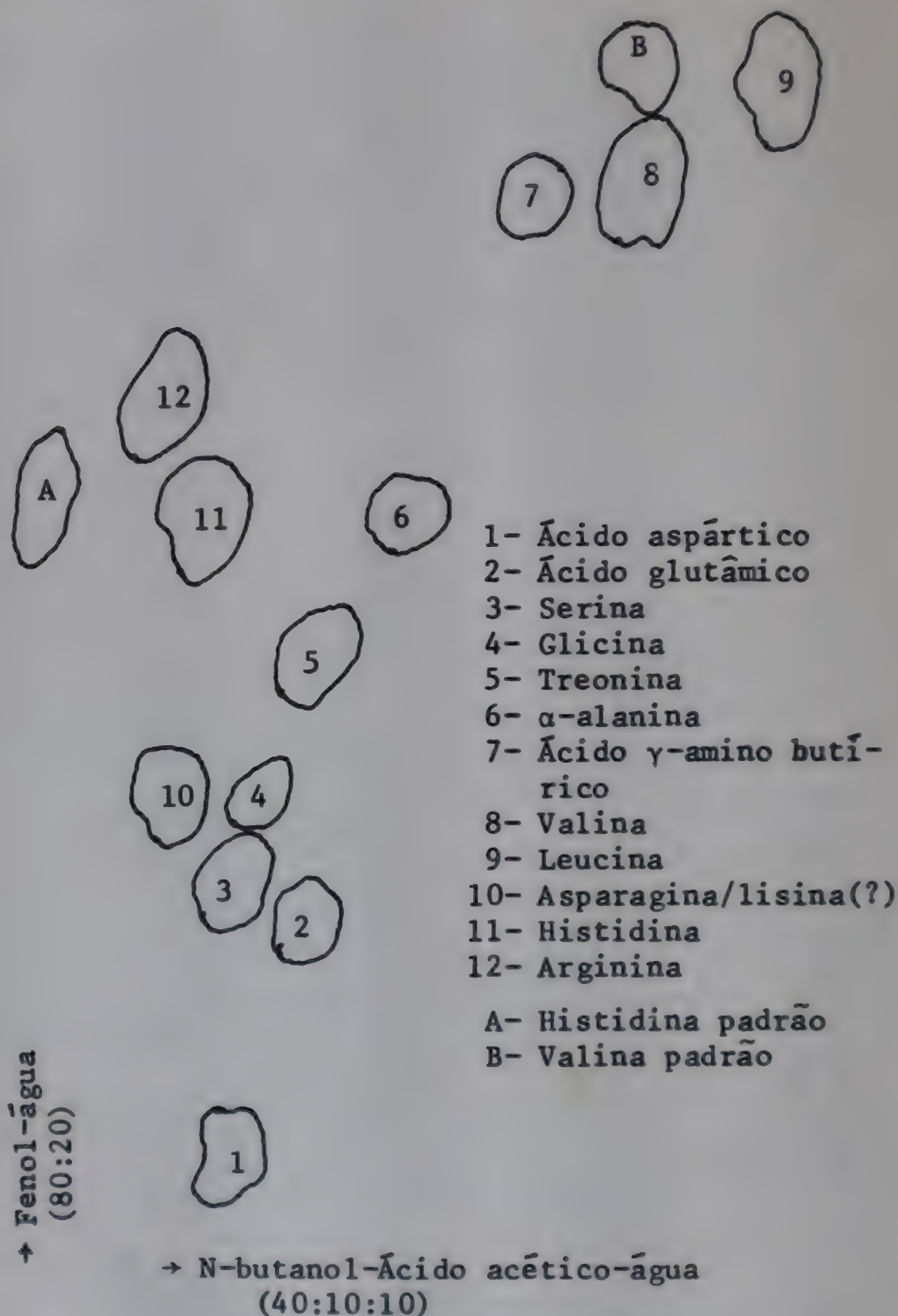
(\*) Os sinais (+), estão representando as proporções relativas aos diferentes aminoácidos.

As proporções relativas dos diferentes aminoácidos cromatografados nas condições descritas, poderão ser observadas nos cromatogramas das Figuras 1 e 2.



**Figura 1.** Cromatograma de aminoácidos livres da polpa de banana-nanica.





**Figura 2.** Cromatograma de aminoácidos livres da polpa de banana-maçã.

Os resultados de idêntico estudo realizado com relação à banana-maçã, poderão ser observados e analisados pelos dados do Quadro 2.

Quadro 2. Aminoácidos encontrados na polpa da banana-maçã madura.

Aminoácidos	Livres	Protéico
Ácido aspártico	+	+++
Ácido glutâmico	+	++
Serina	++	++
Glicina	+	++
Treonina	++	++
Alanina	+	+++
Amino butírico	++	—
Valina	+++	++
Leucina	++++	+
Tirosina	—	+ (?)
Ácido pipecólico	—	—
Prolina	+	+++
Arginina	++	+
Histidina	+++	+
Lisina	+	++
Asparagina	+	—

### RESULTADOS E CONCLUSÕES

Os aminoácidos de três variedades de banana cultivadas na Índia e pertencentes a três espécies botânicas diferentes, a saber: Pacha balé (*Musa caven-*

*dishii* Lamb), "Rasa bale" (*Musa sapientum* L.) e "Kada bale" (*Musa balbisiana* Colla), foram estudados por Bhagavan e Rajagopalan (1). Esses autores fizeram a hidrólise direta da polpa, sem se preocupar com a separação dos aminoácidos livres (fração solúvel).

Descreveram a presença de pelo menos 15 aminoácidos nas variedades de banana por eles estudadas.

Se examinarmos os dados apresentados pelos autores indianos (1), vamos observar que encontraram, nas variedades estudadas, altos teores dos aminoácidos cistina, fenilalanina e tirosina, mas não das aminas asparagina e glutamina e o ácido pipecólico, diferenças essas sensíveis em relação aos resultados aqui apresentados e aos de outros autores, que pesquisaram, recentemente, os aminoácidos da banana (5).

Possivelmente o trabalho mais completo sobre os aminoácidos da banana se deva a Stewart e colaboradores (5), da Universidade de Cornell. Esses autores estudaram os aminoácidos da fração solúvel (aminoácidos livres) e das proteínas da variedade Gros Michel, proveniente das Honduras, da América Central, da Jamaica e do Camerum.

Estudaram, também, as transformações que sofrem os aminoácidos durante o processo de desenvolvimento dos frutos e amadurecimento, bem como os efeitos das estações do ano.

Os resultados obtidos para a variedade Gros Michel, foram comparados com as variedades Lacatan e "Cavendishii", de procedência não identificada.

As conclusões a que chegaram com relação às variedades citadas, podem ser assim resumidas.

Nas bananas Gros Michel, de Honduras, predominaram, de maneira muito marcante, na fração solúvel, as substâncias asparagina, glutamina e histidina (60 a 70%), seguindo-se em abundância o ácido aspártico, o  $\gamma$ -amino butírico,  $\alpha$ -alamina e o ácido pipecólico.



Observou-se, ainda, que a asparagina, a glutamina, o ácido aspártico e a alanina, diminuem em concentração durante o processo de amadurecimento, enquanto que a histidina, valina, prolina e leucina aumentam.

Para a Gros Michel procedente da Jamaica e do Camerum, bem como para as bananas Lacatan e *Cavendishii*, as últimas de procedência não mencionadas encontram composição diferente na fração solúvel e se assemelham muito mais entre si, do que com a Gros Michel, procedente das Honduras. Nessas variedades, a glutamina e histidina contribuem com uma pequena porcentagem do nitrogênio da fração solúvel, sendo que predominam a arginina, asparagina, leucina, prolina, serina e valina. Não foi constatada a presença do ácido pipecólico.

Em relação aos aminoácidos das proteínas (fração insolúvel), não se constatarem grandes variações durante o desenvolvimento e o amadurecimento dos frutos das três variedades estudadas. De modo geral, serina, glicina, treonina e alanina, aumentam, consistentemente, nas proteínas durante o amadurecimento, enquanto que os ácidos aspártico e glutâmico, diminuem.

Steward e colaboradores (5), estudaram ainda o efeito das condições climáticas ou estações do ano sobre as substâncias nitrogenadas da fração solúvel.

Verificaram que frutos desenvolvidos durante o verão, são ricos em glutamina e asparagina, e contêm um teor baixo em histidina; o contrário se verificou com os frutos de inverno, que são ricos em histidina e pobres em asparagina e, especialmente, em glutamina. Os resultados até agora obtidos no C.T.P.T.A., em frutas locais de banana-maçã e banana-nanica, parecem se assemelhar aos de Steward e colaboradores (5), para as bananas Lacatan, *Cavendishii* e a Gros Michel, provenientes da Jamaica e do Camerum.

Para as duas espécies aqui estudadas, embora a histidina constitua boa proporção do nitrogênio da

fração solúvel, ela não predomina de maneira tão evidente, como no caso da Gros Michel, proveniente da América Central. Os aminoácidos que predominam livres na banana-maçã e na banana-nanica, além da histidina, são: arginina, leucina, valina, amino-butírico, serina e treonina. A asparagina aparece em pequena concentração, enquanto que a glutamina não tem sido constatada. É bem provável que a glutamina tenha se perdido no processo empregado, que foi de extração a quente.

O ácido pípecólico e a alanina, têm aparecido nos cromatogramas obtidos, em pequenas concentrações, na fração solúvel. A fenilalanina também não aparece livre na polpa da banana-maçã e da banana-nanica.

A prolina e a tirosina, têm sido constatadas apenas em alguns extratos, aparentemente em bananas mais maduras.

Com relação à proteína dessas duas espécies, os aminoácidos que predominam, são: leucina, valina, alanina, ácido aspártico, serina, ácido glutâmico e treonina. A fenilalanina parece existir na proteína, porém, em quantidade muito pequena. Portanto, qualitativamente, os resultados que temos encontrado para as nossas banana-nanica e banana-maçã, são semelhantes aos de Steward e colaboradores (5), para a Gros Michel e Lacatan.

A maior diferença é a ausência completa de glutamina nos cromatogramas do C.T.P.T.A., o que, talvez, se deva ao processo de extração da fração solúvel. Tem-se feito a extração com etanol a quente (60°C), enquanto que os citados autores, fizeram antes uma extração a frio, para depois aquecer.

Não se deve esquecer, que a hidrólise das proteínas com ácidos produz a destruição do triptofano, podendo ser esse o motivo de não ter sido constatado nas proteínas da banana.

O que se pode concluir em relação às substâncias nitrogenadas que ocorrem na polpa da banana (ami-



noácidos, aminas e proteínas), é que as maiores variações ocorrem nos componentes da fração solúvel em álcool 70%.

Essas variações estão aparentemente muito mais na dependência de condições ambientais (situação geográfica, estação do ano, práticas culturais, processos de amadurecimento, etc), do que propriamente de diferenças entre espécies e variedades.

Em relação aos componentes da fração insolúvel (proteínas), aparentemente estes não sofrem grandes variações, nem específicas, nem com as condições ambientais. Parece de grande importância, para o melhor conhecimento da fisiologia de nossas variedades de banana, um estudo mais detalhado das substâncias nitrogenadas, tanto as que ocorrem livres, como as que aparecem na forma protéica, em diferentes condições de solo, clima e práticas culturais.

O estudo quantitativo dos aminoácidos de diversas variedades de bananas cultivadas no litoral de São Paulo, em vários estágios de maturação, está em execução nos laboratórios do C.T.P.T.A., com o objetivo de se verificar possíveis diferenças entre as variedades e de se obter informações mais completas sobre o valor alimentício dessas frutas.

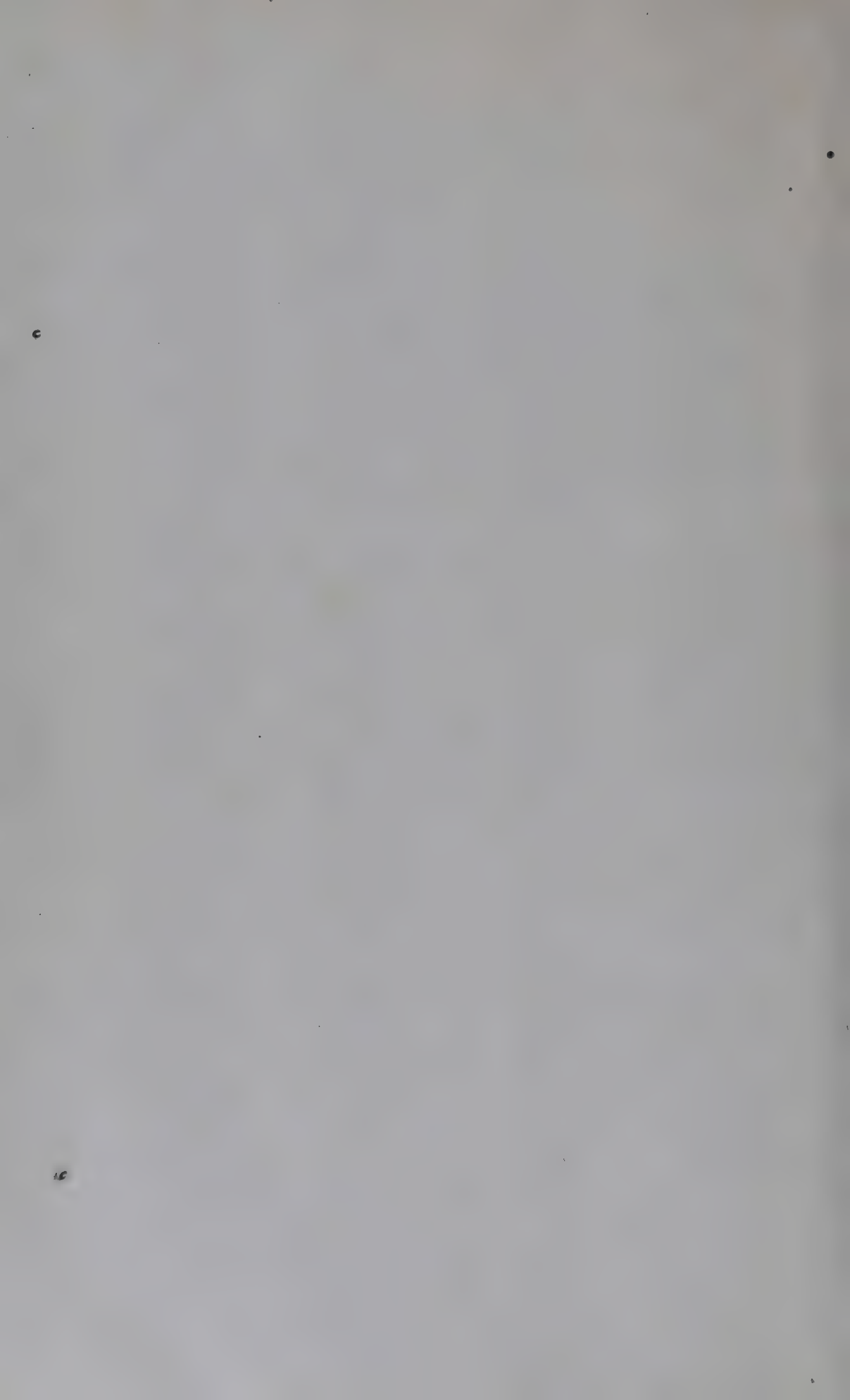
## LITERATURA

1. BHAGAVAN, H.N. & RAJAGOPALAN, R. Amino-Acid make-up of banana. *Curr. Sci.* 25: 223, 1956.
2. HULME, A.C. (Introduced by STEWARD, F.C.) The Nitrogenous Compounds of the Banana Fruit. *Plant Physiol.* 30. Proceed Plant Physiology Meetings, XXVI, 1955.
3. PHILLIP, H., MITCHELL, P.H. A Textbook Biochemistry McGraw-Hill Book Company, Inc., 1946.



4. SHNMUGAVELU, K.G. & RANGASWAMI, G. Tryptophan and indole compounds in banana ovaries. *Nature* 194: 775-776, 1962.
5. STEWARD, F.C., HULME, A.C. & outros. Physiological Investigations on the Banana Plant. I: Biochemical constituents detected in the banana plant. *Annals of Botany* 24: 83-116, 1960.







Diretor-Geral do ITAL

*André Tosello*

Redator Técnico

*Júlio César Medina*

Redação e Revisão

*Odhemar Teizen*

Composição

*Daura Vianna Oioli*

*Flora Salim Mostério*

*Regina A. Mucinhato*

Desenhos

*Maurito Ganzarolli*

Impressão e Encadernação

*Seção de Divulgação e Treinamento do ITAL*

*Orlando Diadame*

Correspondência

*A/c Lygia C. Mantovani*

*Caixa Postal, 655*

*Telefone 8-4179*

*Enderêço Telegráfico "CENTRO"*

*Campinas - São Paulo - Brasil*

















